

普鲁卡因肾上腺素注射液细菌内毒素检查法的研究

杨婉花 翟青 张芳华 邵云弟(上海 200025 上海第二医科大学附属瑞金医院药剂科)

普鲁卡因肾上腺素注射液(Procaine hydrochloride and Epinephrine Injection, 简称 PEI), 含 0.5% 普鲁卡因盐酸盐, 0.25mg% 肾上腺素, 为局麻药。普鲁卡因中加少量肾上腺素可延缓局麻药的吸收, 延长作用时间, 减轻毒性, 减少手术部位的出血。该制剂在我院烧伤手术(头皮静脉滴注 200ml/次)中经常使用, 为了确保制剂质量, 我们探讨了 PEI 对细菌内毒素试验干扰情况, 以便建立 PEI 细菌内毒素检查方法。

1 实验材料

细菌内毒素工作品(厦门鲎试剂厂, 规格 10Eu/支, 批号 970901); 鲎试剂(厦门鲎试剂厂, 灵敏度 0.5 Eu/ml, 970915; 灵敏度 0.25Eu/ml, 970711, 规格均 0.5ml/支)。鲎试剂溶解水(厦门鲎试剂厂, 970720, 规格 2ml/支)。普鲁卡因肾上腺素注射液(本院制剂室生产, 规格 100ml/瓶)。实验前玻璃器皿和针头均 180℃ 干烤 2h 以上。

2 方法与结果

2.1 鲎试剂灵敏度复核

按中国药典 1995 年版二部附录第 76 页“细菌内毒素检查法”操作规定, 根据鲎试剂灵敏度范围, 将细菌内毒素工作品用鲎试剂溶解水溶解, 然后按 1:2 等比稀释成 4 个浓度, 标定鲎试剂灵敏度, 每个稀释浓度做 4 管, 测得灵敏度分别为 0.5 和 0.25Eu/ml 均在 $0.5\lambda_b \sim 2\lambda_b$ 之间, 符合规定。

2.2 细菌内毒素限值 L、最大有效稀释倍数 MVD 的计算

我国的细菌内毒素标准品的致热阈 K 为 5Eu/kg, 本品临床给药最大剂量为 1g, 计算得本品的细菌内毒素理论限值 $L = \frac{K}{M} = \frac{5\text{Eu/kg} \times 60\text{kg}}{1000\text{mg}} = 0.3\text{Eu/mg} = 1.5\text{Eu/ml}$ (体重以 60kg 计算); 另参考美国药典 XXIII 版该品种规定的内毒素限值为 0.6Eu/mg。为严格起见, 我们对该品种检查实验中, 内毒素限值采用 0.3Eu/mg。

因此, 对于 $\lambda_b = 0.5\text{Eu/ml}$ 鲎试剂, $MVD = \frac{L}{\lambda_b} = \frac{1.5\text{Eu/ml}}{0.5\text{Eu/ml}} = 3$ 倍, 则 MVC (最小有效浓度) = 1.67

mg/ml; 对于 $\lambda_b = 0.25\text{Eu/ml}$ 的鲎试剂, $MVD = \frac{L}{\lambda} = \frac{1.5\text{Eu/ml}}{0.25\text{Eu/ml}} = 6$ 倍, $MVC = 0.83\text{mg/ml}$ 。

2.3 干扰实验

2.3.1 求出最高非抑制浓度 NIC: 为排除样品本身可能对细菌内毒素产生的干扰, 将样品用鲎试剂溶解水按 (1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5) 系列浓度的溶液, 用此溶液作为溶剂稀释内毒素, 使内毒素含量为 $\frac{1}{2}\lambda_b$ 、 λ_b 和 $2\lambda_b$ 作为供试液, 用灵敏度为 0.5 和 0.25Eu/ml 的鲎试剂分别进行凝胶化反应, 同时作阳性对照和阴性对照管。从实验结果看出, 本原液对鲎试剂的凝聚反应有抑制作用, 但经稀释成 $\leq 1.67\text{mg/ml}$ 时, 使用鲎试剂灵敏度为 0.5 和 0.25Eu/ml, 细菌内毒素检查无干扰, 初步确定不干扰浓度范围为 1.67 ~ 0.83mg/ml。

2.3.2 增强或抑制作用: 为进一步证实样品浓度为

1.67mg/ml,对于鲎试剂灵敏度 0.5 和 0.25Eu/ml 2 种情况无增强或抑制作用,按中国药典 1995 版二部附录第 76 页“供试品干扰实验”规定,取 3 批样品用鲎试剂溶液水稀释成 1.67mg/ml 的样品作为溶剂,将细菌内毒素工作品稀释成一系列浓度,同时各做阳性和阴性对照实验。从试验结果可看出,对于鲎试剂灵敏度为 0.5 和 0.25Eu/ml 相对应的样品浓度 1.67mg/ml,测得灵敏度在 $0.5 \sim 2\lambda_b$ (包括 $0.5 \lambda_b$ 和 $2\lambda_b$) 之间,可判定供试品在该浓度下不干扰实验,对细菌内毒素检查无增强或抑制作用。

3 讨 论

PEI 为小容量注射液,没有用活性炭或其它方法去除热原,考虑到用于静脉滴注,为了确保制剂质量,有必要进行热原检查。

干扰试验结果表明,PEI 原液对鲎试剂的凝集有抑制作用,只有当稀释到 $\leq 1.67\text{mg/ml}$ 对细菌内毒素检查无干扰,故而用 $\leq 0.5\text{Eu/ml}$ 灵敏度鲎试剂,以便在测定时对样品进行有效稀释作内毒素检查(0.5Eu/ml 灵敏度鲎试剂只能用 1.67mg/ml 样品稀释浓度, 0.25Eu/ml 灵敏度鲎试剂可用 $1.67 \sim 0.83\text{mg/ml}$ 样品稀释浓度),以确保结果的准确性。

收稿日期:1998-05-04