

甲硝唑葡萄糖注射液细菌内毒素检查法的研究

杨旭 周家杰¹ (合肥 230022 安徽医科大学第一附属医院药剂科,² 本院医学工程部)

摘要 目的:以细菌内毒素检查法对甲硝唑葡萄糖注射液进行试验研究。方法:采用抑制或增强试验,并将细菌内毒素检查法与家兔法检测结果作对比。结果:该注射液经一定稀释后对测定无干扰。结论:细菌内毒素检查法适用于检测该注射液。

关键词 甲硝唑葡萄糖注射液;细菌内毒素;抑制或增强试验

Study on bacterial endotoxin determination of metronidazole and glucose injection

Yang Xu(Yang X), Zhou Jiajie(Zhou JJ) (First Affiliated Hospital of Anhui Medical University , He Fei 230022)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the method for determination of bacterial endotoxins of metronidazole and glucose injection. **METHODS:** The experiment was made by the inhibition or enhancement test. The detecting results of the rabbit test was compared with that of the bacterial endotoxin test. **RESULTS:** The method was valid by diluting this injection to the certain concentration, and the detection was not interfered. **CONCLUSION:** The result showed that the method is suitable for the detection of this injection.

KEY WORDS bacterial endotoxin, metronidazole and glucose injection, inhibition or enhancement

甲硝唑葡萄糖注射液《中国药典》95版二部收载的为家兔法检测热原。由于细菌内毒素检查法简便、经济、快捷,我们参照 USA XXIII 中细菌内毒素检查法有关规定^[1],对甲硝唑葡萄糖注射液进行了细菌内毒素检查法的可行性试验,以验证细菌内毒素检查法是否适用于本品的检测。

1 实验材料

鲎试剂(灵敏度 0.25Eu/ml,湛江海洋生物制品厂,批号 960403、970317;灵敏度 0.06Eu/ml,湛江海洋生物制品厂,批号 960413、970413),每批鲎试剂使用前均进行了灵敏度复核;细菌内毒素工作标准品(20Eu,中国生物制品检定所,批号 9605;12Eu,中国生物制品检定所,批号 9701);甲硝唑葡萄糖注射液(250ml/瓶,本院制剂室生产)8批;细菌内毒素检查用水按规定检测,质量符合规定。

2 方法与结果

2.1 内毒素理论限值及最大有效稀释倍数(MVD)的计算:我国静脉用药细菌内毒素致热阈 K 为 5Eu/Kg^[2]。甲硝唑葡萄糖注射液家兔法热原检查剂量 M 为 10ml/Kg,故其内毒素理论限值为 $L = K/M = 0.5$ Eu/ml。最大有效稀释倍数(MVD),对于灵敏度 $\lambda =$

0.25Eu/ml 的鲎试剂, $MVD = L/\lambda = 0.5/0.25 = 2$;对于灵敏度 $\lambda = 0.06$ Eu/ml 的鲎试剂, $MVD = L/\lambda = 0.5/0.06 = 8.3$ 。

2.2 抑制或增强试验:用细菌内毒素检查用水将细菌内毒素工作标准品按等比系列稀释成一系列浓度的内毒素溶液,进行灵敏度复核,灵敏度均在 0.5~2.0 λ 范围内;将样品按 MVD 稀释后,用此稀释液将细菌内毒素工作标准品按等比系列稀释成一系列浓度的内毒素溶液,与鲎试剂进行凝胶化反应,结果见表 1。

此外我们用供试品溶解鲎试剂,分别添加内毒素使成 0.5,0.25 和 0Eu/ml 浓度,使其凝胶化反应,结果见表 2。

从上面结果可以看出,对于灵敏度 $\lambda = 0.25$ Eu/ml、 $\lambda = 0.06$ Eu/ml 的鲎试剂,样品分别经 2 倍和 8 倍稀释后的供试品,其反应终点值 λ_c 均落在 0.5~2.0 λ 的范围内。说明供试品在本实验中的浓度对细菌内毒素试验无抑制或增强作用,由此可见供试品对细菌内毒素试验无干扰^[3]。

2.3 细菌内毒素检查法检测结果与家兔法检测结果对比:我们检测了 8 批供试品,两种检测法结果见表 3。从表 3 可见,两种检测法结果完全一致,从而验证细菌

表 1 甲硝唑葡萄糖注射液的抑制增强试验

样品批号	管号	鲎试剂灵敏度 (Eu/ml)	细菌内毒素浓度(Eu/ml)					阴性对照	
			0.5	0.25	0.125	0.0625	0.0313		
961016 - 22(1:2 稀释)	1	0.25	+	+	-	-	-	-	
	2		+	+	-	-	-	$\lambda_c^1 = 0.25$	
	3		+	+	-	-	-	$\lambda_c^1 / \lambda_b^1 = 1$	
	4		+	+	-	-	-	-	
961210 - 12(1:2 稀释)	1	0.25	+	+	-	-	-	-	
	2		+	+	-	-	-	$\lambda_c^2 = 0.30$	
	3		+	+	-	-	-	$\lambda_c^2 / \lambda_b^1 = 1.2$	
	4		+	-	-	-	-	-	
970609 - 41(1:2 稀释)	1	0.25	+	+	-	-	-	-	
	2		+	+	-	-	-	$\lambda_c^3 = 0.25$	
	3		+	+	-	-	-	$\lambda_c^3 / \lambda_b^1 = 1$	
	4		+	+	-	-	-	-	
961016 - 22(1:8 稀释)	1	0.06		+	+	+	-	-	
	2			+	+	+	-	-	$\lambda_c^4 = 0.0625$
	3			+	+	+	-	-	$\lambda_c^4 / \lambda_b^2 = 1$
	4			+	+	+	-	-	-
961210 - 12(1:8 稀释)	1	0.06		+	+	+	+	-	-
	2			+	+	+	-	-	$\lambda_c^5 = 0.0525$
	3			+	+	+	-	-	$\lambda_c^5 / \lambda_b^2 = 0.88$
	4			+	+	+	-	-	-
970609 - 41(1:8 稀释)	1	0.06		+	+	+	+	-	-
	2			+	+	+	+	-	$\lambda_c^6 = 0.042$
	3			+	+	+	-	-	$\lambda_c^6 / \lambda_b^2 = 0.7$
	4			+	+	+	-	-	-

注:表 1 中 λ_c^1 、 λ_c^2 、 λ_c^3 、 λ_c^4 、 λ_c^5 、 λ_c^6 分别为各批号两种稀释浓度供试品的反应终点值, λ_b^1 、 λ_b^2 分别为 0.25Eu/ml、0.06Eu/ml 鲎试剂灵敏度

表 2 甲硝唑葡萄糖注射液添加内毒素的试验结果

样品添加内毒素 浓度(Eu/ml)	管号	鲎试剂细菌内毒素试验(限量 0.5Eu/ml)(Eu/ml)	
		0.25	0.06
0.5	1	+	+
	2	+	+
0.25	1	+	+
	2	+	+
0	1	-	-
	2	-	-

表 3 细菌内毒素检查法和家兔法检测甲硝唑葡萄糖注射液结果

样品批号	鲎试剂细菌内毒素试验(Eu/ml)		家兔法 热原检查
	0.25	0.06	
960717 - 42	-	-	合格
960801 - 22	-	-	合格
961016 - 22	-	-	合格
961210 - 12	-	-	合格
970409 - 22	-	-	合格
970609 - 41	-	-	合格
970719 - 22	-	-	合格
970827 - 11	-	-	合格

内毒素检查法可用于甲硝唑葡萄糖注射液中内毒素的检测。

3 讨论

从本实验可以看出,甲硝唑葡萄糖注射液只要稀释到一定浓度,对细菌内毒素试验无抑制或增强作用,即不存在干扰。灵敏度 $\lambda = 0.25\text{Eu/ml}$ 和 $\lambda = 0.06\text{Eu/ml}$ 的鲎试剂均能检测该注射液,同时按中国药典规定进行热原检查,其检测结果一致,且临床应用无热原反应。表明细菌内毒素检查法适于该注射液的检测,作为医院制剂的甲硝唑葡萄糖注射液可用细菌内毒素检查代替热原检查。

参考文献

- 1 USP. XXIII - NF. X V III 1696.
- 2 夏振民. 药品细菌内毒素检查的限值. 药物分析, 1995, 15(3): 54.
- 3 冯聚锦. 细菌内毒素检查的抑制或增强试验. 中国生化药物杂志, 1994, 15(2): 141.

收稿日期: 1997 - 11 - 19