

# 细菌内毒素检查法测定 34 倍人工肾透析液热原

吴静<sup>1</sup>, 毛晓冬<sup>2</sup> (1. 西安市第八医院, 陕西 西安 710061; 2. 西安市第一医院, 陕西 西安 710002)

**摘要:**目的 探讨 34 倍人工肾透析液应用细菌内毒素检查法的可行性。方法 应用细菌内毒素试验检查 34 倍人工肾透析液中的热原, 考察 34 倍人工肾透析液对细菌内毒素检查法的干扰行为, 采用细菌内毒素检查法和热原检查法对 34 倍人工肾透析液进行对比试验。结果 34 倍人工肾透析液对细菌内毒素检查法无干扰作用, 可以用灵敏度为  $0.5\text{EU} \cdot \text{mL}^{-1}$  的鲎试剂检测细菌内毒素。结论 可以用细菌内毒素检查法代替家兔热原法控制 34 倍人工肾透析液的质量。

**关键词:** 34 倍人工肾透析液; 细菌内毒素; 热原检查

中图分类号: R927.12 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2005)06-0493-03

## Study of bacterial endotoxin for monitoring pyrogen of thirty-fourfold dialysis solution for artificial kidney

WU Jing<sup>1</sup>, MAO Xiao-dong<sup>2</sup> (1. *The Eight Hospital of Xi'an, 710061, China*; 2. *The First Hospital of Xi'an, 710002, China*)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To research into the possibility of the use of bacterial endotoxin test of thirty-fourfold dialysis solution for artificial kidney. **METHODS** Use bacterial endotoxin test to detect pyrogen in thirty-fourfold dialysis solution for artificial kidney, the interference of thirty-fourfold dialysis solution for artificial kidney to the process of bacterial endotoxin test was studied. Contrast test was made using bacterial endotoxin and pyrogen test. **RESULTS** Thirty-fourfold dialysis solution for artificial kidney has no interference to the bacterial endotoxin test and could be tested by amoebocyte lysate with the sensitivity of  $.0.5\text{EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ . **CONCLUSION** Amoebocyte lysate method can be used in place of rabbit method for pyrogen monitoring thirty-fourfold dialysis solution for artificial kidney.

**KEY WORDS:** thirty-fourfold dialysis solution for artificial kidney; bacterial endotoxin; pyrogen test

34 倍人工肾透析液是我院自制制剂,主要用于体外血液透析。我们根据临床用药情况,从制剂质量稳定性角度出发,将其配制成酸液(A液)和碱液(B液),115℃高压灭菌30min,临用前混合<sup>[1]</sup>。按照《中国医院制剂规范》灭菌制剂质量要求,34 倍人工肾透析液的热原检查采用家兔法进行。但在实际工作中,为了及时满足临床用药,我们按照《中国药典》2000 年版“细菌内毒素检查法”对 34 倍人工肾透析液的细菌内毒素检查法进行可行性研究,结果准确可靠,检测效率提高。

### 1 实验材料

鲎试剂(TAL)(批号 050118,湛江海洋生物制品厂;批号 050302,厦门鲎试剂厂;灵敏度均为 0.5EU · mL<sup>-1</sup>,规格均为 0.1mL/支);细菌内毒素工作标准品(CSE)(批号 050312,湛江海洋生物制品厂;批号 050222,厦门鲎试剂厂;10EU/支)、细菌内毒素检查用水(BET)(批号 050211,规格 2mL/支),均系福建东方鲎试剂厂制品;供试品:34 倍人工肾透析液(批号 050125,050201,050215,自制制剂);所用器皿均经 250℃干燥 1h。

### 2 供试品细菌内毒素理论值(L)<sup>[2]</sup>的确定

按照灭菌制剂人最大可接受的内毒素剂量  $K = 5EU \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$ ,本品热原检查注射剂量  $M = 10mL \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$ ,所以  $L = K/M = 0.5EU \cdot mL^{-1}$ 。

### 3 方法与结果

#### 3.1 鲎试剂(TAL)灵敏度复核<sup>[3]</sup>

将细菌内毒素工作标准品用鲎试剂溶解水溶解,稀释成 2.0λ,1.0λ,0.5λ,0.25λ 浓度的内毒素溶液,每一浓度平行做 4 支,同时用细菌内毒素检查用水做 2 支阴性对照,观察结果见表 1,计算两个生产厂家鲎试剂实测  $\lambda_c = \log^{-1}(\sum X/4) = 0.5EU \cdot mL^{-1}$ , $\lambda_c$ 均在 0.5 ~ 2.0λ<sub>b</sub>内,实测值与标准值一致,符合规定。

表 1 鲎试剂灵敏度复核试验

Tab 1 TAL sensitivity compound nucleus test

生产厂家	试管编号	内毒素浓度(EU · mL <sup>-1</sup> )				阴性对照
		1	0.5	0.25	0.125	
湛江海洋生物制品厂	1	+	+	-	-	-
	2	+	+	-	-	-
	3	+	+	-	-	-
	4	+	+	-	-	-
厦门鲎试剂厂	5	+	+	-	-	-
	6	+	+	-	-	-
	7	+	+	-	-	-
	8	+	+	-	-	-

#### 3.2 最大有效稀释倍数确定

选用灵敏度为 0.5EU · mL<sup>-1</sup>鲎试剂时,  $MVD = L/\lambda_b = 0.5EU \cdot mL^{-1}/0.5EU \cdot mL^{-1} = 1$ 。

#### 3.3 鲎试剂溶解水质量考察

试验使用的 BET 溶解水(内毒素含量 < 0.03EU · mL<sup>-1</sup>)经检查<sup>[3]</sup>与灵敏度为 0.03EU · mL<sup>-1</sup>鲎试剂在(37 ±

1)℃恒温水浴中 24h 不产生凝聚反应,符合规定。

### 3.4 供试品干扰试验

使用湛江海洋生物制品厂生产的鲎试剂,按鲎试剂(TAL)灵敏度复核操作,用细菌内毒素检查用水(BET)和经热原检查合格的 3 批供试品,将 1 支细菌内毒素工作标准品(CSE)分别稀释成 2.0λ,1.0λ,0.5λ,0.25λ 4 种浓度溶液,取细菌内毒素检查用水(BET)和供试品(A)液的每一浓度平行做 4 支另取细菌内毒素检查用水(BET)和供试品各做 2 支阴性对照,依法<sup>[3]</sup>操作,供试品(B)液同法操作,结果见表 2,由  $E_s = \log^{-1}(\sum X_s/4) = 0.5EU \cdot mL^{-1}$ ,  $E_i = \log^{-1}(\sum X_i/4) = 0.5EU \cdot mL^{-1}$ 知: $E_s$ 在 0.5 ~ 2.0λ<sub>b</sub>内,  $E_i$ 在 0.5 ~ 2.0λ<sub>b</sub>内,表明供试品(A)液、(B)液在鲎试剂灵敏度为 0.5EU · mL<sup>-1</sup>下不干扰试验。使用厦门鲎试剂厂生产的鲎试剂同法试验,结果一致,说明供试品对不同厂家生产的鲎试剂无干扰作用。

表 2 34 倍人工肾透析液干扰试验结果(湛江海洋生物制品厂)

Tab 2 Thirty-fourfold dialysis solution for artificial kidney confusion test(Zhanjiang biologics factory)

供试品批号	内毒素浓度(EU · mL <sup>-1</sup> )				阴性对照	灵敏度 EU · mL <sup>-1</sup>
	1.0	0.5	0.25	0.125		
BET 稀释 CES	++++	++++	++++	----	--	0.5
050125(A)	++++	++++	++++	----	--	0.5
050125(B)	++++	++++	++++	----	--	0.5
050201(A)	++++	++++	++++	----	--	0.5
050201(B)	++++	++++	++++	----	--	0.5
050215(A)	++++	++++	++++	----	--	0.5
050215(B)	++++	++++	++++	----	--	0.5

### 3.5 供试品的检测

3.5.1 供试品的细菌内毒素检测 取装有 0.1 mL 鲎试剂溶液原安瓿 5 支,其中 2 支作供试品管,1 支作阴性对照管,1 支作阳性对照管,1 支作供试品阳性对照管,依法<sup>[3]</sup>检测,结果见表 3。

表 3 34 倍人工肾透析液细菌内毒素检测结果

Tab 3 Thirty-fourfold dialysis solution for artificial kidney endotoxin detection result

生产厂家	鲎试剂批号	供试品批号	管号		阴性对照	阳性对照	供试品阳性对照
			1	2			
湛江海洋生物制品厂	050118	050125(A)	-	-			+
		050125(B)	-	-			+
		050201(A)	-	-	-	+	+
		050201(B)	-	-	-	+	+
		050215(A)	-	-	-	+	+
厦门鲎试剂厂	050302	050125(A)	-	-			+
		050125(B)	-	-			+
		050201(A)	-	-	-	+	+
		050201(B)	-	-	-	+	+
		050215(A)	-	-	-	+	+
		050215(B)	-	-	-	+	+

**3.5.2 供试品的热原检查** 将3个批号的供试品按中国药典2000年版进行热原检查<sup>[3]</sup>,结果符合规定,用于临床无一例热原反应。

## 4 结论

通过使用不同厂家生产的鲎试剂对3批34倍人工肾透析液进行细菌内毒素检查,同时热原检查对比,认为该制剂采用细菌内毒素检查热原是可行的。

## 5 讨论

干扰试验与选择的鲎试剂灵敏度和供试品最大有效稀释倍数有关。提高鲎试剂的灵敏度,且提高供试品最大有效稀释倍数,可减少抑制效应。

本试验结果表明,用灵敏度为 $0.5\text{EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 鲎试剂对

34倍人工肾透析液(A)液、(B)液进行质量控制是可靠的。

近年来我们采用细菌内毒素检查法控制34倍人工肾透析液(A)液、(B)液质量,检测结果均为阴性,同时用热原检查法复核均符合规定。

## 参考文献

- [1] 毛晓冬,吴静.34倍人工肾透析液制备工艺探讨[J].中国临床医药研究杂志,2000,12(18):2803.
- [2] 夏振民.药品细菌内毒素检查的限值[J].药物分析杂志,1995,15(3):54.
- [3] 中国药典[S].二部.2000.附录86;附录85.

收稿日期:2003-11-03