维普资讯 http://www.cqvip.com

用细菌内毒素法对氯霉素注射液的热原检查

董利民* 刘凤春 王福军

【摘 要】 **目的** 氯霉素注射液的研究。**方法** 采用细菌内毒素检查法和家兔升温法两种方法进行对比分析。**结果** 氯霉素注射液(50倍稀释品)对人体下会产生热原反应。**结论** 在药品检测中,用细菌内毒素检查法可代替家兔升温法对氯霉素注射液做热原检查

【关键词】 氯霉素注射液 细菌内毒素检查法

The study of chloromycetin injection liquid with the examining method of bacteria endotoxin *Dong Limin, Liu Fengchun, Wang Fujun The Clinical College of Jiamusi University in Heilongjiang Province* 154002

【**Abstract**】 **Objective** The study of chloromycetin injection liquid. **Methods** The compared analysis on the examining methods between bacteria endotoxin and rising temperature of rabbit. **Results** 50 times diluted liquid of chloromycetin did not produce the reaction of endogenous. **Conclusion** The examining method of bacteria endotoxin could take place of the rising temperature method of rabbit to examine the reaction of endogenous.

【**Key words**】 Injection liquid of chloromycetin Examining method of bacteria endotoxin

来源于革兰氏阴性微生物的内毒素,在绝大多数情况下是污染供试品,产生热源,从而引起发热、休克和死亡的重要原因,内毒素具有多脂糖的化学结构,通常被证明的一个结论是:供试品中没有内毒素意味着没有热源。因此,在药品常规检查中,热源检查显得尤为重要。然而,鲎试剂与内毒素之间的凝集反应,可能被供试品或其中存在的某些因素所干扰,使反应增强或抑制。因此希望以细菌内毒素检查代替药典中要求的热原检查,检验者必须进行证实是否存在干扰因素的试验。

为了进一步推动我国细菌内毒素法的研究和应用,扩大品种,我们对氯霉素注射液的细菌内毒素法进行了深入研究。

材料和方法

一、实验原理

将等体积的样品溶液和新配制的鲎试剂,在试管中混匀,37±1℃反应60分钟。如果测试的溶液含有内毒素,就会在主式管中显示反应,视内毒素浓度多少,呈轻度混浊,甚至呈凝胶状。

二、实验材料

鲎试 批号980206,灵敏度0.5EU/ml 湛江安度斯生物有限公司。

细菌内毒素工作标准品 批号924,灵敏度12000EU/支,中国药品生物制品检定所。

内毒素标准用水 批号980229,规格10ml/支,中国药品生物制品检定所。

氯霉素注射液 批号980502 981202 980901 980701 980102 980107 981031 981127,规格1.25g/ml郑州预新制药公司。

三、方法和结果

1.内毒素限值的确定:根据公式 L=K/M=5.0EV/kg/1ml/kg=5EV/ml,L为供试品内毒素的限值以EV/ml表示,K为规定的给药途径。临床无任何不良反应的内毒素阈剂量,以EV/kg表示,规定静脉给药的K值为5.0EV/kg。M为规定给药途径,兔和人的最大剂量,以ml/kg表示。

2.鲎试剂灵敏度复核:按文献方法进行,结果 λ_L 为0.5EV/ml,符合规定,λ_L 为经复核后的鲎试剂灵敏度。

3.干扰试验有效浓度[C]和稀释浓度倍数[D]的计算:根据公式 $D=L/\lambda_b$,L为供试品内毒素限值,单位EV/ml,λ_b 为鲎试剂灵敏度标示值,单位EV/ml。

$D_{max}=L/\lambda_{min}=5EV/ml0.0625EV/ml=80$ 倍

* 作者单位:154002 黑龙江省佳木斯大学医学院附属第一医院

维普资讯 http://www.cqvip.com

$D_{max} = 1/\lambda_{min} = 5EV/ml/0.5EV/ml = 10$ 倍

按公式 $C = C_0 \cdot \lambda/L$，本品进行干扰实验，药液的浓度 $C_0 = 5mg/ml$，因此干扰实验的最大和最小有效浓度分别为：

$C_{max} = 5mg/ml \times 05EV/ml/5EV/ml = 0.5mg/ml$

$C_{min} = 5mg/ml \times 0.0625EV/ml/5EV/ml = 0.0625mg/ml$

由此可知，本品进行的干扰实验，应从最大有效浓度 0.5mg/ml 开始，即 10 倍稀释液开始，依次取 10、20、30、40、50 倍释液，进行干扰实验。

4. 干扰实验：先将 5mg/ml 的样品液，稀释为 0.5、0.25、0.167、0.125、0.1mg/ml 再将细菌内毒素工作标准品稀释为 2λ、λ、0.5λ、0.25λ 系列浓度，将以上各浓度的供试品与各浓度的内毒素工作标准品各 0.1ml 一一对应加入鲎试剂中，封口混匀，37±1℃反应 60 分钟。

结果见附表。

附表 供试品干扰实验

供试品稀释液(EV/ml)	内毒素工作标准品(EV/ml)						
	1.0	0.5	0.25	0.125	0.0625	阴性对照	备注
10倍稀释品	+	+	+	+	+	-	有干扰
20倍稀释品	+	+	+	+	+	-	有干扰
30倍稀释品	+	+	+	+	+	-	有干扰
40倍稀释品	+	+	+	+	+	-	有干扰
50倍稀释品	+	+	-	-	-	-	有干扰

结论：50 倍稀释品，即 0.1mg/ml 的氯霉素注射液对人体不会产生热原反应。在药品检验中，可以用细菌内毒素法代替家兔法对氯霉素注射液做热原检查。

重视性试验：选择以上内毒素检查法无干扰的 50 倍(即 0.1mg/ml)的稀释液，按细菌内毒素法重复操作 3 次，结果重现率为 100%。

家兔法与内毒素法结果比较：取市售品 8 批，按细菌内毒素检查无干扰浓度为 0.1mg/ml 与家兔法结果进行比较，相符率为 100%。

讨 论

从供试品的干扰试验结果可以判定，50 倍稀释供试品对细菌内毒素检查法无干扰。实验过程中，每次实验必须与阴性、阳性的相对照，阴性对照是证实鲎试剂及细菌内毒素检查用水中没有可测出的内毒素，阳性对照是证实试验条件下鲎试剂的凝集活性。

试验中，使用的细菌内毒素检查用水或其它材料可能存在少量内毒素，但只要不超过鲎试剂的灵敏度，就不能被检出，然而它可增加供试品中含有的内毒素量，使其刚好在灵敏度限值以上，引起阳性反应。尽管出现这种"假阳性实验"的情况是不可避免的，但可以采用至少比供试品内毒素限值更小的鲎试剂来检查细菌内毒素检查用水或其他材料，减少这种"假阳性实验"的出现。这种供试品的"假阳性实验"反应是安全的，因为它本身存在的内毒素量低于限值，对人体健康不造成危害，它与含有超过内毒素限值，而被错误的通过是不同的。

在实验结果处理中，稀释品在高浓度内毒素稀释液均呈阳性。反之，稀释品在低浓度内毒素工作标准品稀释液中呈阴性，同一批号的鲎试剂和溶解水保证试验的准确性，连续 4 组以上的浓度的平等试验保证了实验精确性，按此浓度检样 4 批，细菌内毒素检查法结果与家兔检验结果进行比较，相符率为 100%，可以说，氯霉素注射液在 0.1mg/ml 浓度下，细菌内毒素法可以代替家兔法。至于 0.1mg/ml 浓度以下的氯霉素注射液还有待进一步研究。

参 考 文 献

1. 陆德鸿主编. 医学微生物学. 第 4 版. 北京：人民教育出版社，1986，162.
2. 宋继竭主编. 病理学. 第 4 版. 北京：科学出版社，1988，235.

(收稿：1999-08-30)