

## 鱼腥草注射液的细菌内毒素检查

张建国 (山东高密市人民医院, 山东 高密 261500)

**摘要** 目的: 建立鱼腥草注射液细菌内毒素检查法。方法: 按《中国药典》2000年版二部收载的细菌内毒素检查法要求, 确定样品最大有效稀释倍数, 进行鱼腥草注射液细菌内毒素干扰试验。结果: 鱼腥草注射液 1:2 倍稀释用  $\lambda$  为 0.5 EU/mL 鲎试剂检查细菌内毒素存在抑制性干扰, 1:4 稀释用  $\lambda$  为 0.25 EU/mL 鲎试剂可消除干扰因素, 可有效检测该药细菌内毒素。结论: 鲎试验法可用于鱼腥草注射液细菌内毒素检查, 控制热原。

**关键词** 鱼腥草注射液; 细菌内毒素; 干扰试验; 鲎试剂

中图分类号: R927.12

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2006)04-0216-03

## Bacterial endotoxin test of *Houttuynia* injection

ZHANG Jian-guo (Gaomi People's Hospital of Shandong, Gaomi 261500, China)

**ABSTRACT Objective:** To explore a bacterial endotoxin test for *Houttuynia cordata* injection. **Methods:** The bacterial endotoxin test was experimented according to the requirement of the second volum of China Pharmacopoeia, 2000 edition. **Results:** The interference factors could be excluded in the *Houttuynia cordata* diluted to 4 times, the bacterial endotoxin could be determined effectively by 0.25 EU/mL of TAL. **Conclusion:** The pyrogenotoxin in *Houttuynia cordata* injection can be determined by I.L.A.

**KEY WORDS** *Houttuynia cordata* injection; bacterial endotoxin; interference experiment; tachypleus amoebocyte lysate (TAL)

鱼腥草注射液 (*Houttuyniae cordata* injection) 为中药注射液, 具有清热解毒利湿作用, 是临床较常使用的抗菌抗病毒中药制剂。国内未见鱼腥草注射液细菌内毒素检查法 (bacterial endotoxin test, 简称 BET) 报道, 本文按照《中国药典》2000年版二部<sup>[1]</sup> 收载的细菌内毒素检查法要求, 对鱼腥草注射液 BET 方法进行探讨和可行性研究。现报道如下。

### 1 实验材料及仪器

鲎试剂, 灵敏度  $\lambda = 0.5$  EU/mL, 0.1 mL/支, 编号 XM1、XM2; 灵敏度  $\lambda = 0.25$  EU/mL, 0.1 mL/支, 编号: XM3、XM4 (厦门市鲎试剂实验厂有限公司提供)。鲎试剂, 灵敏度  $\lambda = 0.5$  EU/mL, 0.1 mL/支, 编号 ZJ1、ZJ2; 灵敏度  $\lambda = 0.25$  EU/mL, 0.1 mL/支, 编号 ZJ3、ZJ4 (广东湛江安度斯生物有限公司提供)。细菌内毒素检查用水, 批号: 20031206, 规格: 2 mL/支。无热原空试管。无热原吸头 (广东湛江安度斯生物有限公司提供)。细菌内毒素工作标准品, 批号 040701, 规格 500 EU/支 (厦门市鲎试剂实验厂有限公司提供)。鱼腥草注射液, 编号 YXC1、YXC2、YXC3, 规格 50 mL/瓶 (昆明市宇思药业有限责任公

司提供, 符合药典各项规定)。恒温水浴箱 (山东医疗器械厂)。超净工作台 (上海净化设备厂)。XW-80A 型旋涡混合器 (上海精科实业有限公司)。50~250  $\mu$ L 微量移液器, 100~1 000  $\mu$ L 微量移液器 (中外合资上海求精生化制剂仪器有限公司)。

### 2 试验方法与结果

鱼腥草注射液 BET 试验采用凝胶法进行<sup>[1]</sup>。

**2.1 鲎试剂灵敏度复核试验** 根据鲎试剂灵敏度标示值  $\lambda$ , 使用细菌内毒素检查用水 (BET) 制备 2.0 $\lambda$ 、1.0 $\lambda$ 、0.5 $\lambda$ 、0.25 $\lambda$  细菌内毒素标准溶液, 按药典规定检查方法进行试验<sup>[2]</sup>, (37  $\pm$  1)  $^{\circ}$ C 保温 (60  $\pm$  2) min, 计算反应终点浓度的几何平均值。结果鲎试剂灵敏度均在 0.5~2.0 $\lambda$  之间 (包括 0.5 $\lambda$  和 2.0 $\lambda$ ), 为其标示灵敏度值, 符合规定。

**2.2 细菌内毒素限值 (L) 确定** 根据文献<sup>[3]</sup>,  $L = K/M$ , 给药途径为静脉时,  $K = 5.0$  EU/(kg  $\cdot$  h), 按清开灵注射液每公斤每小时临床最大剂量计算 M 值约等于 5.0 mL/(kg  $\cdot$  h), 确定清开灵注射液  $L = 1.0$  EU/mL。

**2.3 样品最大有效稀释倍数 (MVD) 确定** 由于可选用鲎试剂灵敏度在 0.5~0.03 EU/mL 之间, 按  $MVD = CL/\lambda$  ( $\lambda$  为鲎试剂的灵敏度标示值), 计算鱼腥草注射液有效稀释倍数 MVD 为 2~32 倍。

**2.4 样品干扰试验** 选择灵敏度 $\lambda$ 为0.5EU/mL、0.25EU/mL 鲎试剂进行干扰试验。

供试品准备。取3个批号鱼腥草注射液分别于超净工作台内,按药典规定检查方法进行试验<sup>[2]</sup>。取无热原空试管分别加入BET检查用水,再加入鱼腥草注射液供试液,旋涡混合30s,制成3个批号鱼腥草注射液1:2稀释液和1:4稀释液。

供试品阳性制备。于超净工作台内,取细菌内毒素工作标准品(500EU/支),加入BET 2mL溶解,置旋涡混合器旋涡15min,制成细菌内毒素工作贮备液。分别取3批号鱼腥草注射液1:2稀释液和1:4稀释液加入细菌内毒素工作贮备液,旋涡30s使均匀,制成含细菌内毒素1.0、0.5、0.25、

0.125EU/mL 3批号鱼腥草注射液2倍稀释液供试品阳性,含细菌内毒素0.5、0.25、0.125、0.06 EU/mL 3批号鱼腥草注射液4倍稀释液供试品阳性。

鱼腥草注射液1:2稀释液和1:4稀释液分别用灵敏度 $\lambda$ 为0.5、0.25EU/mL 鲎试剂按药典规定方法进行样品干扰试验<sup>[2]</sup>。

《中国药典》2000版规定<sup>[2]</sup>  $E_s 0.5 \sim 2.0\lambda$  (包括0.5 $\lambda$ 和2.0 $\lambda$ )时,且  $E_t$  在0.5 $E_s$ 和2.0 $E_s$ (包括0.5 $E_s$ 和2.0 $E_s$ )时,则认为供试品在该浓度下不干扰实验。实验结果显示鱼腥草注射液2倍稀释液用 $\lambda 0.5EU/mL$  鲎试剂进行细菌内毒素检查存在干扰,有抑制作用。供试品经4倍稀释后,使用 $\lambda 0.25EU/mL$  鲎试剂实验则可消除其抑制性干扰。结果见表1。

表1 鱼腥草注射液干扰试验结果

样品稀释倍数	供试品	灵敏度 (EU/mL)	细菌内毒素浓度(EU/mL)					阴性对照 N c	F值 (EU/mL)	鲎试剂 (厂家批号)
			1.0	0.5	0.25	.125	0.06			
2	YXC1	0.5	----	----	----	----	----	--	$E_t > 1.0$	ZJ1
	YXC2		-+--	----	----	----	----	--	$E_t > 1.0$	
	YXC3		----	----	----	----	----	--	$E_t > 1.0$	
	BET水		++++	++++	----	----	----	--	$E_s 0.5$	
4	YXC1	0.25		++++	++++	----	----	--	$E_t 0.25$	ZJ3
	YXC2			++++	++++	----	----	--	$E_t 0.25$	
	YXC3			++++	++++	----	----	--	$E_t 0.25$	
	BET水			++++	++++	----	----	--	$E_s 0.25$	
2	YXC1	0.5	----	----	----	----	----	--	$E_t > 1.0$	ZJ2
	YXC2		-+--	----	----	----	----	--	$E_t > 1.0$	
	YXC3		----+	----	----	----	----	--	$E_t > 1.0$	
	BET水		++++	++++	----	----	----	--	$E_s 0.5$	
4	YXC1	0.25		++++	++++	----	----	--	$E_t 0.25$	ZJ4
	YXC2			++++	++++	----	----	--	$E_t 0.25$	
	YXC3			++++	++++	----	----	--	$E_t 0.25$	
	BET水			++++	++++	----	----	--	$E_s 0.25$	
2	YXC1	0.5	+----	----	----	----	----	--	$E_t > 1.0$	XM1
	YXC2		----	----	----	----	----	--	$E_t > 1.0$	
	YXC3		----+	----	----	----	----	--	$E_t > 1.0$	
	BET水		++++	++++	----	----	----	--	$E_s 0.5$	
4	YXC1	0.25		++++	++++	----	----	--	$E_t 0.25$	XM3
	YXC2			++++	++++	----	----	--	$E_t 0.25$	
	YXC3			++++	++++	----	----	--	$E_t 0.25$	
	BET水			++++	++++	----	----	--	$E_s 0.25$	
2	YXC1	0.5	----	----	----	----	----	--	$E_t > 1.0$	XM2
	YXC2		+----	----	----	----	----	--	$E_t > 1.0$	
	YXC3		----	----	----	----	----	--	$E_t > 1.0$	
	BET水		++++	++++	----	----	----	--	$E_s 0.5$	
4	YXC1	0.25		++++	++++	----	----	--	$E_t 0.25$	XM4
	YXC2			++++	++++	----	----	--	$E_t 0.25$	
	YXC3			++++	++++	----	----	--	$E_t 0.25$	
	BET水			++++	++++	----	----	--	$E_s 0.25$	

注: + 为阳性反应, - 为阴性反应  $\lambda_c = \log^{-1} \Sigma X/4$ , X 为反应终点细菌内毒素浓度对数值

**3 讨论**

我们使用上述方法对3家不同厂商提供的9个批号鱼腥草注射液进行重复试验,得出与上文一致结果,鱼腥草注射液对试验抑制作用与药品成分及

浓度有关,与药品制备工艺路线可能不相关。本实验未对鱼腥草注射液中细菌内毒素进行定量检查,无法掌握药品中细菌内毒素含量,是为本实验不足之处。

对中药注射液的鲎试验法检查目前尚处于摸索

阶段,文献报道不多。我们对鱼腥草注射液中细菌内毒素检查法进行探索研究表明,细菌内毒素检查法可有效检测鱼腥草注射液细菌内毒素,建立的方法简便易行,对设备、器械无特殊要求,具有较好的稳定性、重现性和可操作性。高密市人民医院药检室2004年9月起使用本文所述的细菌内毒素法试用于鱼腥草注射液细菌内毒素检查,取得满意效果。使用细菌内毒素检查法用于鱼腥草注射液热原质量

控制,可作为该药热原检测内控方法。

#### 参考文献:

- [1] 中国药典.2000年版,二部[S]附录X IX F:204.
- [2] 中国药典.2000年版,二部[S]附录X I E:86.
- [3] 黄清泉.药品细菌内毒素检查的实验设计[J].中国药学杂志,1997,32(2):72.

收稿日期:2005-10-31

## 一次性输液器终端滤器滤除输液中微粒效果的考察

王小群<sup>1</sup>,麦毅忠<sup>1</sup>,刘舜莉<sup>1</sup>,谢树斌<sup>1</sup>,刘金城<sup>2</sup>,苏恰玉<sup>3</sup>(1.广东省中山市小榄人民医院,广东 中山 528415,2.中山市东升人民医院,广东 中山 528414,3.中山市东风人民医院,广东 中山 528416)

**摘要** 目的:考察3个医院使用的终端滤器除微粒的效果。方法:取复方丹参注射液20mL加入5%GS 500mL中,经输液器终端滤器过滤,弃去初滤液约50mL,取续滤液80mL;除去滤器,弃去初滤液约50mL,取续滤液80mL做对照,按中国药典2005年版二部附录微粒检测项下测定过滤液与未过滤液微粒数,并计算滤除率。结果:不同厂家的输液器终端滤器对6种微粒的滤除率,经PEMS软件包处理, $\geq 3\mu\text{m}$ 、 $\geq 20\mu\text{m}$ 、 $\geq 25\mu\text{m}$ 的微粒,其结果无显著性差异( $P>0.05$ ); $\geq 5\mu\text{m}$ 、 $\geq 10\mu\text{m}$ 、 $\geq 15\mu\text{m}$ 的微粒,其结果有显著性差异( $P<0.05$ )。同厂不同批号输液器终端滤器,对微粒的滤除率有2个厂6个批号之间存在显著性差异( $P<0.05$ );其余均无显著性差异( $P>0.05$ )。结论:5个厂家的输液器终端滤器对 $\geq 20\mu\text{m}$ 和 $\geq 25\mu\text{m}$ 2种微粒的滤除率,均无显著性差异( $P>0.05$ ),均可达80%以上。

**关键词** 终端滤器;一次性输液器;微粒

中图分类号:R944.9

文献标识码:A

文章编号:1006-0111(2006)04-0218-03

随着《GMP》标准的实施,输液的质量已大幅度提高。但在临床使用输液的过程中,尚有许多因素可影响输液的最终质量,造成不溶性微粒增加。如小针剂的加入是造成不溶性微粒对临床输液污染的主要因素,输液器终端滤器对滤除输液中微粒起着举足轻重的作用。我国现在普遍用纤维膜终端过滤器,孔径为 $20\mu\text{m}$ ,应用直径 $(20\pm 1)\mu\text{m}$ 胶乳粒子进行滤过率试验,滤除率应不小于80%<sup>[1]</sup>。本实验模拟临床输液,对3个医院使用的输液器滤除微粒的效果进行考察,结果报道如下。

### 1 仪器与材料

GWJ-3智能微粒检测仪(天津大学);超净工作台(苏州长桥)复方丹参注射液(山西太行药业股份有限公司),规格:10mL×5支,批号:02020214 pH值6.52;5%GS 500mL(本院制剂室生产),批号:20021115 pH值4.20;输液器:A厂、B厂、C厂、D厂、E厂各4个批号,每个批号5付,共100付。中

国医学百科全书·医学统计软件包(PEMS Ver. 2.1)。

### 2 方法与结果

**2.1 方法** 在超净工作台上操作。取复方丹参注射液10支,5%GS 500mL 1瓶,按中国药典二部2005年版附录不溶性微粒检查法分别进行微粒检测;另模拟临床输液,将复方丹参注射液20mL加入5%GS 500mL中,混匀,通过输液器,弃去初滤液约50mL,收集约80mL续滤液进行微粒检测。除去终端滤器,弃去约50mL,收集约80mL进行微粒检测,做对照。测定设置:每个样品( $\geq 3\mu\text{m}$ 、 $\geq 5\mu\text{m}$ 、 $\geq 10\mu\text{m}$ 、 $\geq 15\mu\text{m}$ 、 $\geq 20\mu\text{m}$ 、 $\geq 25\mu\text{m}$ )各测定5次,取平均值,每5付输液器所测得的微粒数,用PEMS Ver 2.1软件包计算滤除率并取平均值和标准差,对不同厂家及同厂不同批号的输液器终端滤器滤过微粒的滤除率作多个样本均数及两两比较。

**2.2 结果** 不溶性微粒测定结果(粒/mL):复方丹参注射液 $\geq 3\mu\text{m}$ 、 $\geq 5\mu\text{m}$ 、 $\geq 10\mu\text{m}$ 、 $\geq 15\mu\text{m}$ 、 $\geq 20\mu\text{m}$ 、 $\geq 25\mu\text{m}$ 微粒分别为255.3、141.7、28.1、