

[文章编号] 1000-2200(2005)04-0349-02

# 复方利多卡因注射液细菌内毒素检测的初步探讨

谢冬梅, 张大萍

[摘要] 目的: 建立复方利多卡因注射液的细菌内毒素检查法。方法: 按《中国药典》2000 年版(二部)附录收载的细菌内毒素检查方法及指导原则进行实验。结果: 复方利多卡因注射液对鲎试剂的凝集反应无干扰作用, 用灵敏度 0.5 EU/ml 的鲎试剂检查细菌内毒素的方法可行有效。结论: 可以用细菌内毒素检查法来控制复方利多卡因注射液的质量。

[关键词] 药物质量检验; 复方利多卡因注射液; 细菌内毒素检查法; 致热原/分析

[中国图书资料分类法分类号] R 927.11 [文献标识码] A

## Preliminary study on the bacterial endotoxin test for compound lidocaine injection

XIE Dong-mei, ZHANG Da-ping

(Department of Pharmacology, Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, China)

[Abstract] **Objective** To establish a bacterial endotoxin test for monitoring pyrogens in compound lidocaine injection. **Methods:** The bacterial endotoxin test procedure and guiding principle in Chinese Pharmacopoeia were used. **Results:** The test using limulus agent with a sensitivity of 0.5 Eu/m showed that the reaction was not interfered by compound lidocaine injection. **Conclusions:** Limulus bysate method can be used to monitor the pyrogens in compound lidocaine injection.

[Key words] drugs quality test; compound lidocaine injection; bacterial endotoxin test; pyrogens/analysis

细菌内毒素检查法代替家兔法检查致热原已普遍应用于注射液, 该法具有灵敏度高、操作简便、重现性好的优点。本文通过实验, 探讨以细菌内毒素检查法取代家兔致热原检查法检测复方利多卡因注射液的可行性。

### 1 材料与方法

1.1 材料 鲎试剂(tachypleus amebocyte lysate, TAL), 湛江安度斯生物有限公司生产, 批号: 0206122, 灵敏度( $\lambda$ ) 0.5 EU/ml; 福州新北生化工业有限公司生产, 批号: 020430, 灵敏度( $\lambda$ ) 0.5 EU/ml。细菌内毒素工作标准品, 中国药品生物制品检定所生产, 批号: 2001-3, 每支 70 EU。细菌内毒素检查用水(bacterial endotoxin test, BET 水), 湛江安度斯生物有限公司生产, 批号: 0102270, 每支 5 ml。复方利多卡因注射液, 合肥大众医药科技有限责任公司生产, 批号: 010105、020917、021010, 规格 20 mg/ml。漩涡混合器, 无致热原吸头, 微量移液器。

#### 1.2 方法

1.2.1 细菌内毒素限值(L)的计算  $L = K/M = (5.0 \text{ EU/kg}) / (20 \text{ ml}/60 \text{ kg}) = 15 \text{ EU/ml}^{[1]}$  (公式中 M 为本品致热原检查的注射剂量, K 为细菌内毒素阈值)。

#### 1.2.2 最大有效稀释倍数(MVD)的确立<sup>[2]</sup>

$MVD = C \cdot L / \lambda = (1.0 \times 15 \text{ EU/ml}) / (0.5 \text{ EU/ml}) = 30$  倍(公式中 C 为供试品溶液浓度, 这里为 1 ml/ml, L 为细菌内毒素限值,  $\lambda$  为灵敏度标示值)。

1.3 鲎试剂灵敏度复核实验 鲎试剂灵敏度复核实验按细菌内毒素检查法操作<sup>[4]</sup>。

1.4 干扰实验<sup>[2]</sup> 取 3 批经致热原检查合格的供试品, 用 BET 水稀释 2 倍后, 分别用此溶液和 BET 水将同一支细菌内毒素工作标准品制成含细菌内毒素工作标准品 2.0 $\lambda$ 、1.0 $\lambda$ 、0.5 $\lambda$ 、0.25 $\lambda$  4 种浓度的内毒素溶液。每一浓度平行做 4 支, 另取 BET 水和供试品 2 倍稀释液各做 4 支阴性对照管。按细菌内毒素检查法操作。

1.5 供试品细菌内毒素检查实验 将 3 批致热原检查合格的复方利多卡因注射液用 BET 水(批号 0102270) 稀释 2 倍。用  $\lambda = 0.5 \text{ EU/ml}$  的 TAL(批号 0206122), 按细菌内毒素检查法进行实验, 每一批次供试品做 2 支样品管即样品 1 和样品 2, 具体操作按细菌内毒素检查法<sup>[2]</sup>。

### 2 结果

2.1 鲎试剂灵敏度复核实验结果 经复核, 鲎试剂灵敏度测定值( $\lambda_c$ ) 均在 0.5 $\lambda \sim 2.0\lambda$ , 表明鲎试剂灵敏度标示符合规定。结果见表 1。

2.2 干扰实验结果 干扰试验结果见表 2。最大浓度 2.0 $\lambda$  管均为阳性, 最低浓度 0.25 $\lambda$  管均为阴性, 阴性对照管均为阴性。用 BET 水制成的内毒素

[收稿日期] 2004-06-03

[作者单位] 1. 蚌埠医学院附属医院 药剂科, 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 谢冬梅(1976—), 女, 安徽濉溪县人, 药剂师(沈阳药科大学在读研究生)。

标准溶液的反应终点浓度的几何平均值( $E_s$ )和用供试品溶液制成的内毒素溶液的反应终点浓度的几何平均值( $E_t$ )的计算公式为  $E_s = \lg^{-1}(\sum X_s/4)$ ,  $E_t = \lg^{-1}(\sum X_t/4)$ , 从表2中可以看出,  $E_s$  在  $0.5\lambda \sim 2.0\lambda$ ,  $E_t$  在  $0.5E_s \sim 2.0E_s$ , 复方利多卡因注射液的2倍稀释液对细菌内毒素实验无干扰。

表2 供试品干扰实验结果

TAL 批号	稀释溶剂	供试品批号	细菌内毒素浓度(EU/ml)				阴性对照	灵敏度
			2.0 $\lambda$	1.0 $\lambda$	0.5 $\lambda$	0.25 $\lambda$		
0206122		010105	++++	++++	-----	-----	Et 0.5	
0206122		020917	++++	++++	-----	-----	Et 0.5	
0206122		021010	++++	++++	-----	-----	Et 0.5	
	BET 水	0102270	++++	++++	-----	-----	Es 0.5	
020430		010105	++++	++++	-----	-----	Et 0.5	
020430		020917	++++	++++	-----	-----	Et 0.5	
020430		021010	++++	++++	-----	-----	Et 0.5	
	BET 水	0102270	++++	++++	-----	-----	Es 0.5	

2.3 供试品细菌内毒素检查实验结果 细菌内毒素检查实验结果显示, 样品管和阴性对照管均呈阴性, 供试品阳性管和阳性对照管均呈阳性, 3个批号(010105、020917、021010)供试品的细菌内毒素检查均符合规定, 与家兔法结果一致。

### 3 讨论

细菌内毒素工作标准品稀释过程中的每一步应严格按照要求在漩涡混合器上振荡。因为内毒素是亲水和疏水双重活性的两性分子<sup>[3]</sup>。其主要毒性部位是脂性 LiPid A 端, 复溶后如不剧烈振荡, LiPid A 端不能与鲎试剂充分接触, 在干扰实验中会造成假阴性而被误认为干扰。在实验过程中还应严格避免

TAL	内毒素浓度(EU/ml)				灵敏度( $\lambda_c$ )
	2.0 $\lambda$	1.0 $\lambda$	0.5 $\lambda$	0.25 $\lambda$	
0206122	++++	++++	-----	-----	0.5
020430	++++	++++	-----	-----	0.5

外源性微生物的污染, 以免阳性结果的产生而影响实验结果的准确性。

从上述实验可知, 复方利多卡因注射液的2倍稀释液对细菌内毒素检查法无干扰作用, 可以用细菌内毒素检查法替代致热原检查法, 方法是复方利多卡因注射液2倍稀释后, 用  $\lambda = 0.5$  EU/ml 的 TAL 作细菌内毒素检查, 结果准确可靠。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中国药典(二部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 204.
- [2] 中华人民共和国药典委员会. 中国药典(二部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 86~87.
- [3] 褚衍立, 张淑英, 张淑梅. 浅议鲎实验法中不容忽视的几个问题[J]. 中国医院药学杂志, 2000, 20(1): 62.

[文章编号] 1000-2200(2005)04-0350-03

· 检验医学 ·

## 两点与五点定标对血清脂蛋白(a)测定的影响评价

宋焰桃

[摘要] 目的: 评价免疫透射比浊法(ITA)两点与五点定标对血清脂蛋白(a)[LP(a)]测定的影响。方法: 分别用两点与五点定标校正分析系统测定130例临床血清样本LP(a)水平。结果: 按浓度(mg/L)分成5组, 0~、100~、200~、300~、400~600, 测定结果两点定标依次为102.22±4.06、174.98±35.11、280.11±38.36、408.13±44.44、526.42±36.69, 五点定标依次为84.48±4.31、160.21±24.98、243.14±29.85、351.98±27.74、479.51±41.88, 两点结果均高于五点( $P < 0.001$ )。结论: ITA法测定血清LP(a)应采用五点定标建立工作曲线, 两点定标测定误差较大。

[关键词] 脂蛋白类; 免疫透射比浊法; 定标

[中国图书资料分类号] Q 513.5 [文献标识码] A

[收稿日期] 2004-08-05

[作者单位] 安徽省桐城市人民医院 检验科, 231400

[作者简介] 宋焰桃(1973-), 男, 安徽望江县人, 主管检验师。

血清脂蛋白(a)[Lipoprotein(a), LP(a)]在临床上愈来愈受到重视, 不但是冠心病(coronary heart disease, CHD)的独立危险因素<sup>[1]</sup>, 而且与糖尿病、心