

# 鲎试剂应用与进展

周海钧

湛江安度斯生物有限公司主编 1998年第1期(总第2期)

1998年2月28日

## 导 言

《进展》的出版受到了广大读者的欢迎。迄今为止,随本刊第一期寄出的《读者意见征求表》的回收率已达70%。广大读者在意见征求表中表达了对本刊的支持、期望和建议,在此我代表《进展》编辑组表示衷心的感谢!

应许多读者要求,《进展》本期在内容上偏重有关鲎试剂具体应用的份量,并拟在下期继续增加有关具体品种应用的篇幅。

使用鲎试剂检查的药品已达数百种,本刊很难满足读者对每一品种信息的要求,只能选择一些使用较广泛,或在方法上较有典型意义的品种,刊载介绍这些品种的应用经验的文章。但是,只要读者有来函提出具体的要求(信息、资料、技术等),我们都将尽最大努力提供帮助。

中国药品生物制品检定所周海钧所长为本刊作了刊名题字,王思礼主任和夏振民研究员对本刊提出了许多宝贵的意见,我们在此深表感谢!

湛江安度斯生物有限公司

王思礼

一九九八年二月二十八日

# 鲎试验干扰的消除

James F. Cooper

**摘要** 对鲎试验干扰机理的更全面、深入的理解和使用合理的稀释以减小抑制问题；常规的干扰因素包括不合适的 PH 值、内毒素的聚集或吸附、容器效应、不均衡的离子浓度、酶或蛋白的修饰和非特异性鲎反应；稀释是解决干扰问题的最好方法，因为超过 90% 的干扰依赖于浓度，样品与鲎试剂用水 1:40 稀释即可消除干扰，其它的问题采用稀释加上中和干扰因素的特殊处理方法即可解决。

BET 被尽早接受的一个重大障碍是只有很少的非肠道用药没有干扰可直接检查，一项 FDA 的人用药品与鲎试验相容性的调查证实了抑制的影响范围，在全部研究品种中仅 30% 的药品可以不经处理直接检查，幸好 97% 的抑制问题可以用简单的处理（如稀释）消除，因为抑制通常依赖于浓度，内毒素限值也为药品或医疗器械的浸取液提供了较大的稀释范围以消除抑制。

## 抑制的机理

抑制是多种多样的，其潜在的机制很难阐明，在检测一个未经稀释的样品时，通常存在多种干扰因素的作用，FDA 的鲎试验指南中规定，同一标准内毒素的阳性水对照与阳性样品对照系列的反应终点存在显著差异时，即可确定为存在干扰，导致鲎试验灵敏度下降即凝胶反应时间延长的是抑制；相反，增强则引起灵敏度升高或缩短形成凝胶的时间。

一个普遍的误解是将鲎试验的抑制归因于药品配方或医疗器械浸取液对鲎试剂的有害影响，事实上，大部分抑制问题是因为加入样品中的精制内毒素处于聚集状态引起的，也就是

说，因为精制脂多糖的不充分分散而经常表现为抑制，这种情况并不代表环境内毒素的检查也存在同样的问题。

详细考查鲎试剂与内毒素的反应，为分清抑制的原因提供了线索，该反应的最适 PH 为中性，需要二价阳离子和分散的内毒素；凝胶现象是一个多步反应，由内毒素活化的酶作用于凝固蛋白原产生可逆的凝胶或微小沉淀，因此干扰因素应包括：

- a. 不合适的 PH 值环境
- b. 对照内毒素聚集或吸附
- c. 不适宜的阳离子浓度
- d. 酶或蛋白质的修饰
- e. 非特异性的鲎试剂激活物

## A、不合适的 PH 值环境

鲎试剂与内毒素反应的最适 PH 值范围是 6.4 到 8.0，当 PH 值向上或向下偏离中性时，鲎试剂的反应性都会明显下降，大体积注射液存在着不合适的 PH 值，但它不具备缓冲，即没有化学能力以维持 PH 值，测量鲎试剂与样品混合物 PH 值可以确定混合物 PH 值是否合适，结合稀释法，鲎试剂可能有足够的缓冲以消除 PH 值问题，但这种能力通常因鲎试剂的生产商不同而不同，无缓冲的试剂可以用合适的缓冲液复溶，但要注意灵敏度的变化。

小体积注射液通常被缓冲在特定的 PH 值，并且有最大的稳定性，0.1N 或更低浓度的 HCl、NaOH 可方便地用来中和样品，若酸碱由试剂级浓度直接稀释到无热原水中，即配即用，可保证稀释溶液无热原，中和常产生沉淀，若阳性产品对照成立，则可以取上清液检

查,最简易的解决 PH 值干扰的方法是稀释减少干扰,采用具有缓容力的鲎试剂,或者,在样品中加入预先确定量的稀酸、碱中和后再稀释。

### B、内毒素修饰

内毒素的低回收率,表现为鲎试剂反应性的丧失,这是精制内毒素——更确切地应称为脂多糖的固有特征,内毒素是一个具有亲水、疏水两个区域的大分子,这种结构使内毒素分子间或内毒素分子与检品中成份结合形成微室,内毒素的分散性是由脂质 A 形成高分子聚合物的功能和多糖与阳离子静电引力决定的,当内毒分子的聚集增加,内毒素的鲎反应性和热原性都显著下降,通常检品中离子强度的较大提高会引起内毒素的聚集和回收率低。因此,一价阳离子和多价阴离子会加重低浓度内毒素不易分散的问题,而低浓度内毒素 ( $<1\text{EU/ML}$ ) 常用作性对照。

内毒素分散剂常用于高离子强度引起的抑制,2%的阳离子分散剂 (pyroperse, 惠特克生物制品公司) 可以有效地恢复存在于复杂配方中内毒素的效价,例如,油、脂肪乳、抗生素的盐溶液,通常,最好的减弱离子影响的方法是在允许的范围内稀释。

### C、容器效应

内毒素稀释液贮存一段时间后会破坏而失活,即使经充分的旋涡混合也不能恢复,其中可能有多种干扰因素,内毒素稀释管应该是高质量硼硅酸盐玻璃材质,以避免内毒素吸附于试管壁,多数鲎试剂使用者通过洗涤稀释管以重复使用,但有一点要注意,不能残留任何洗涤剂,以避免形成微室。

塑料用具使用方便,却伴随着未知的干扰因素,通常还不止内毒素修饰一种;组织培养级聚苯乙烯微孔平板和试管可用于接触内毒素溶液,而聚丙烯会使贮存其中的内毒素完全失去毒性,尽管这种深度抑制是抑制 LPS,可当我们比较贮存在聚丙烯试管和玻璃试管中的自来水时,发现聚丙烯试管中环境中毒素的显著失活;鲎试验的再现性是以可靠的程序为前提的,玻璃或塑料制品必须经筛选以解决容器相

关的问题。

### D、不平衡的二价离子水平

二价离子对鲎反应和内毒素分散都起着重要作用,  $\text{Ca}^{++}$ 、 $\text{Mg}^{++}$  离子浓度的不适宜会抑制或增强鲎反应,许多原因都会引起二价离子的不充足而导致干扰状态,有机络合剂,存在于某些药物中,用来络合重金属离子起稳定作用,抗凝剂例如:肝素钠、柠檬酸钠 都会络合钙离子抑制鲎试验,当然肝素钙没有抑制作用,最好的消除离子不足的方法是计算  $\text{Ca}^{++}$  需求量,然后补充等摩尔的无热原  $\text{CaCl}_2$ ,当然某些鲎试剂能抵抗肝素的抑制;二价离子加入试剂会增加鲎试剂灵敏度,因此调整含有  $\text{Ca}^{++}$ 、 $\text{Mg}^{++}$  等二价盐的药品离子水平时应特别注意,避免增强内毒素反应。

### E、蛋白质或酶的修饰

凝胶现象是基于一系列丝氨酸蛋白酶的酶促放大作用产生的,酶可被氧化剂、抗氧化剂、蛋白水解剂或专一失活剂所灭活,这些都会引起抑制,乙醇和苯酚对蛋白质有变性作用,因而要限制其在样品中含量,实用的消除这些问题的方法除了稀释外,还有特别的技术,如化学法或加热灭活处理样品混合物,或使用超过滤技术从样品中分离内毒素。

在生物技术中,通常要检查哺乳动物的血浆或血清样品中的内毒素水平,Levin 发现血浆或血清样品中有强烈的抑制物,必须去除其干扰,Fraberger 报道将血浆 1:10 稀释,70~80℃加热 5 分钟可破坏血浆蛋白酶抑制物,而且内毒素没有明显的损失,另一个可使用的方法是将血清样品在沸水中加热 2~3 分钟再稀释至少 10 倍。

### F、非特异性的鲎反应激活

某些纤维素质质的浸取液或洗出液可能会含有痕量的增强物被称作鲎试剂反应物质 (LAL-RM),后证实是  $\beta(1\rightarrow4)-D$ -葡聚糖,它是通过一条酶促反应支路引起鲎试剂凝胶反应。据报道 LAL-RM 存在于醋酸纤维素膜过滤的滤液中,这种滤液可以产生很高的鲎反应性,这种增强作用并不存在于所有厂商的鲎试剂中,更换产生 LAL-RM 的材料例如,

使用其它材质的滤膜就可以消除这种干扰。

含有丝氨酸蛋白酶的生物制品也会产生类似内毒素的鲎反应，胰酶在一定条件下就具有反应性，加热处理可灭活胰酶，然后再作鲎试验分析能真正消除这种假阳性反应。

**讨论** 超过 90% 的干扰作用可以经鲎试剂用水采取大于 1:40 的稀释消除，大多数的剩余问题可以用以上讨论的方法与稀释相结合来解决，在确定的干扰情况下，鲎反应中轻微

表一

鲎试验干扰的解决方案

问 题	解 决 方 案
PH	1、简单稀释 2、酸碱中和、再稀释
内毒素降低	1、简单稀释加旋涡混合 2、监控或更换容器 3、内毒素分散剂
二价离子降低	1、稀释消除络合因素 2、在抗凝剂中补充 $Ca^{++}$ 3、更换鲎试剂厂商
过多的钙离子	1、更换不同批号或不同厂商的鲎试剂
蛋白质变性/酶失活	1、灭活干扰剂 2、超滤样品
非内毒素激活	1、加热灭活样品中蛋白酶 2、更换不同批号或厂商的鲎试剂 3、消除增强的来源
容器效应	1、监测容器的使用 2、避免使用聚丙烯试管

显色和动态浊度系统为更大稀释以消除干扰提供了机会，但凝胶法干扰试验的数据却很少能直接用于这些定量系统，必须进行新的验证。例如显色法分析虽带来了机会，也引入了新问题，因为颜色的产生反应与凝胶反应很不同，而使用凝胶法验证的数据则不会影响动态浊度的反应时间，这种比较有时也没有意义，例如：LAL5000 和 LAL4000 系统中鲎试剂被样品很大程度地稀释了，干扰因素也就大大地增加，而有些定量系统允许同时收集定量和凝胶

的变化会引起反应的变化，比较两个或多个鲎试剂厂商的产品可以解决相容性的问题；用以消除干扰的任何样品预处理方法都须至少经三批样品的验证。

有些干扰须采取特殊技术，超滤则是运用物理作用从存在抑制的样品中分离内毒素，全塑的即用单位，如赛多利斯的 UltrasartD20 滤器，已用于从干扰物质中分离，回收内毒素。

的数据，这种情况下，干扰被唯一地确定，但灵敏度却又受到限制。

**结论** 合理的解决干扰的方法应包括一、在给定条件下揭示干扰的机理，二、建立一个中和样品中干扰因素的方法，当然，目标是简便的处理方法——稀释，只有稀释不足以解决问题时，才考虑结合使用其它方法。

(参考文献略)

刘冰译自

Resolving LAL Testing Interferences

J Parent sci Tech 1991 44 (1) 13 ~ 15

# 几种青霉素对鲎试验灵敏度的影响

J. AL - Khalifa, N. V. Naidu 等

鲎试验——作为一种取代传统兔温法用于药品热原检查，正被广泛地调查研究，在美国药典中鲎试验被称为细菌内毒素检查法(BET)，现在，注射用水、大体积注射液、放射性药品及生物制品已广泛地使用鲎试剂检查内毒素，而小体积注射剂和固体配方药品则显示出对鲎试验的抑制，尤其是抗生素，在药用浓度下可抑制鲎试剂形成凝胶，我们筛选了几种抗生素制品，测试其终产品配方对鲎试验的影响，并且报道了在日常检查下最大的无抑制浓度。

## 材料与方 法

青霉素钠：Hoechst 公司，氨苄西林：Bristol 实验室，甲氧西林、氯唑西林：Beecham 实验室，头孢噻吩、头孢呋辛：葛兰素实验室，氮草脒西林：Leo 制药；工作标准内毒素：血液化学公司，由 Ecolio55:B5 提取；参考 RSE 标示为 10Eu/ng，批号：84BE1；EC5：加入抗生素中制备混合液；鲎试剂，Pyrogen 惠特克生物制品公司，Limusate 血液化学公司。

将内毒素稀释于一定浓度抗生素的注射用水溶液中，制备一系列稀释液，取 0.1ml 鲎试剂与 0.1ml 内毒素、抗生素溶液混合于 10×75 的试管中，37℃保温 60±2 分钟，然后检查试管内凝胶的形成，坚实凝胶为阳性(+)其它为阴性(-)。

## 结果讨论

不同浓度的检品对鲎试剂灵敏度的影响见表一，无抑制浓度，是在未作 PH 值调整条件下测定的，每个检查浓度至少重复二次试验，

结果显示不同的青霉素对鲎试验的抑制很不同，氯唑西林，头孢噻吩，头孢呋辛在大于 2mg/ml 时抑制鲎试验，而氨苄西林，甲氧西林和氮草脒西林，在 10mg/ml 时也未表现出抑制作用，青霉素钠的最大无抑制浓度为 10,000 单位/ml；在较早的几项研究中 (Newsome 1977, Case 等 1983) 报道了头孢噻吩、氨苄西林和青霉素钾的最大无抑制浓度分别为 6mg/ml、25mg/ml 和 2000u/ml，这种差异可归因于以下因素，一、本次试验中对不合适的 PH 值未作调整，二、产品配方的原因，而青霉素我们使用其钠盐，其它几种抗生素的试验结果与较早的研究结果基本一致。

本次研究还表明，消除这几种青霉素干扰的最简便有效的方法是稀释，稀释并不会影响鲎试验的有效性，表二中比较了几种青霉素的最低无抑制稀释 DROI 和最大有效稀释 MVD，所有品种的 DROI 都小于 MVD，使用 0.06Eu/ml 的鲎试剂检查这些品种都不会有抑制作用，DROI：MVD 从头孢噻吩的 1：1.6 到氨苄西林的 1：40，而头孢噻吩的 DROI 较接近 MVD，在这种情况下，可能会需要更灵敏的鲎试剂；以上结果仅是提供了一些重要青霉素的鲎试验应用信息，DROI 依赖于试验条件，它只起一定的指导作用，在验证每种产品的鲎试验之前，每个厂商或实验室都应自己确定无抑制浓度。

(参考文献略)

刘冰译自

Effect of some penicillins on the sensinty of Limulus amoebocyte lysate J pham pharmacol 1989 41 127

表一

几种青霉素对鲎试验灵敏度的影响

鲎试剂	青霉素类 (mg/ml 或单位/ml)	内毒素浓度 (Eu/ml)			
		0.5	0.25	0.125	0.06
pyrogen 批号: 3KR $\lambda = 0.125\text{Eu/ml}$	50,000	-	-	-	-
	20,000	+	-	-	-
	10,000	+	+	-	-
	5,000	+	+	-	-
	0	+	+	-	-
Limusate 批号: 74B1 $\lambda = 0.06\text{Eu/ml}$	25	+	-	-	-
	10	+	+	+	+
	5	+	+	+	+
	2	+	+	+	+
	0	+	+	+	+
Limusate 批号: 101B3 $\lambda = 0.057\text{Eu/ml}$	50	-	-	-	-
	20	+	-	-	-
	10	+	+	+	+
	1	+	+	+	+
	0	+	+	+	+
	25	-	-	-	-
	10	-	-	-	-
	5	-	-	-	-
	2	+	+	+	+
	1	+	+	+	+
0	+	+	+	+	
Limusate 批号: 14B1 $\lambda = 0.125\text{Eu/ml}$	5	+	-	-	-
	3	+	+	-	-
	2	+	+	+	-
	0	+	+	+	-
	50	-	-	-	-
	25	-	-	-	-
	10	-	-	-	-
	5	+	-	-	-
	2	+	+	+	-
	0	+	+	+	-
氮草脒西林	40	-	-	-	-
	20	+	+	-	-
	10	+	+	+	-
	0	+	+	+	-

注: 所有样品的内毒素含量均小于  $0.032\text{Eu/ml}$ , 试验中阴性水对照均为阴性

表二

几种青霉素产品试验的最大无抑制浓度比较

抗 生 素	青霉素钠	氨苄西林	甲氧西林	氯唑西林	头孢噻吩	头孢呋辛	氮草脲西林
产品效价或浓度 C (mg/kg, u/kg)	50, 000	50	50	50	100	125	100
人或兔剂量 M (mg/kg, u/kg)	50, 000	20	60	20	50	21. 4	40
内毒素限值 L= K/M (Eu/mg, Eu/u)	0. 0001	0. 25	0. 08	0. 25	0. 10	0. 23	0. 125
灵敏度 $\lambda$ (Eu/ml)	0. 250	0. 062	0. 062	0. 062	0. 125	0. 125	0. 125
最高无抑制浓度 NIC (mg/ml, u/ml)	10, 000	10	10	2	2	2	10
最低无抑制稀释 DROI	5	5	5	25	50	62. 5	10
最大有效稀释 MVD	20	200	65	202	80	230	100
DROI/MVD	0. 250	0. 025	0. 075	0. 123	0. 625	0. 272	0. 100

$$\text{注: DROI} = \frac{C}{\text{NIC}}$$

## 快 讯

一、1996年10月,世界卫生组织第46次生物标准品专家委员会会议发布了第二批内毒素国际标准品 IS94/580,中国也根据新的 IS建立了第六批国家标准内毒素 981,981的制备也参考了 IS的制备方法,采用同一原料制备了第三批,最后选出一批最好的作为国家标准,981效价的标定工作共有十一个单位采用凝胶法试验,各有三个单位进行了动态浊度与显色法试验,其凝胶法效价为 9,000Eu/瓶;981标准于 98 元旦起执行同时淘汰 962,新的

一批国家标准品基本上实现了与国际标准的接轨。

二、继 981 标准品的建立,由中检所组织的研制第二批鲎试剂参考品的招标工作也拉开帷幕。我公司曾经在 1994 年成功地制备了中国第一批参考鲎试剂(生产批号为 940409,详见《中国药事》1997 11 (1) 63~64)。在本次招标活动中,我公司将全力以赴,力争使我国鲎试剂参考品的质量更上一层楼。

# 鲎试剂在药品生产过程质量控制上的应用\*

冯聚锦 张永坚

(湛江安度斯生物有限公司 524022)

## 1、前言

在各国现行药典中,热原检查是注射药品的重要检查项。但这一规定对于美国药典(USP)却是例外。美国药典第23版及它的1至7增补本规定细菌内毒素检查项的注射药品已达620多种,仅有约30个品种保留热原检查项。这些保留品种采用细菌内毒素检查在技术上没有问题,只有法规上的问题。美国药典公约组织(USPC)计划在两年后采用细菌内毒素检查项的药品将达650多种,基本上不采用热原检查法。但实际上USPC及美国食品药品监督管理局(FDA)更重视内毒素检查法在药品生产过程质控上的应用。尽管在学术上关于热原与细菌内毒素的异同的讨论仍在继续,但在医药工业上“热原就是内毒素,控制内毒素就控制了热原”已成为一致的认识。基于这一认识,USPC和FDA一直在鼓励及促进药品生产企业在生产过程使用鲎试剂检查,在许多品种药典尚未规定内毒素检查项之前就要求企业在生产过程应用内毒素检查法。FDA要求新药的申请或药品企业的建立所呈报的申请资料中必须包括生产过程使用鲎试剂检查作质控的数据。据USPC的专家估计,在美国鲎试剂的用量中,有75%的鲎试剂被用于药品生产过程质控。

## 2. 鲎试剂在药品生产过程热原控制的方法

### 2.1 内毒素限值的确定

对于每种注射药品,欲应用细菌内毒素检查法于生产过程质控,首先要确定该种药品的内毒素限值(EL)。每种药品的EL可以由下述途径获得:

(1) 药典已规定细菌内毒素检查项的品种,必然会给出该品种的EL。

(2) 对于药典没有规定细菌内毒素检查项的品种,可以根据该药品的人的最大剂量计算EL,计算公式为:

$$EL = \frac{K}{M}$$

上式中M为每小时人的公斤体重的最大注射剂量,中国成人平均体重按60Kg计算;K被称为内毒素阈值。下表是美国FDA制定的不同给药途径的药物的K值,此标准已被世界各国所接受。

给药途径	K (Eu/kg)
静脉(包括皮内,皮下,腔内)	5.0
放射性药品	2.5
鞘内	0.2

在计算大输液的EL时,M一般定为10ml/Kg/hr。

### 2.2 生产过程热原监控体系的建立

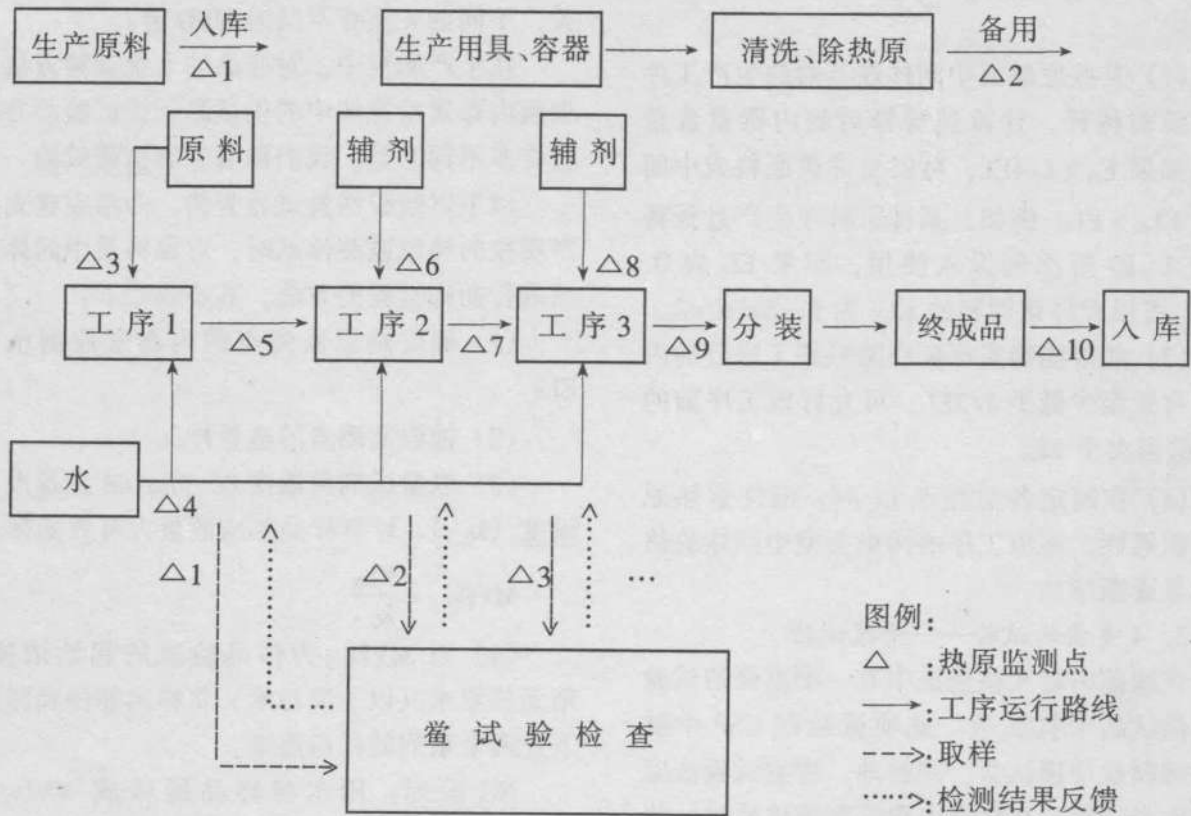
简单地说,热原监控体系就是热原监控点

\* 因篇幅所限,本文未能全文刊登,欲需全文的读者可来函索取。



的设置与分布。如下图所示：

药品生产过程热原监控体系示意图



一般来说，在确定生产过程的热原监控点时应考虑如下因素：

(1) 重要的媒体及原料

水是制药工业最重要的媒体，也是造成药品热原不合格的最主要的污染源之一，应对生产过程所涉及的原料水、生产过程用水的内毒素含量作重点监测。对于生产使用的原料，在进货前、入库后或生产投料前应作内毒素检查，使质控人员清楚地了解原料的内毒素水平以及将会对生产过程中间体的内毒素水平造成何种的影响。

(2) 与中间体接触的各种用具、器皿以及终产品的包装容器，用鲎试剂检查这类用具、容器的清洗及除热原效果。

(3) 生产过程添加的各种辅剂

(4) 各工序前后中间体的内毒素水平变化

至少在生产过程的重要工序之间要设置监测点。例如，在除热原工序后设置监测点，监测该工序除热原（干烤、过滤或吸附）的效果。又如在分装工序前必须抽检，确保中间体热原含量不超出控制水平才进行分装。

建立生产过程的热原监控体系可以先从简单着手，逐步完善，即首先建立对质量影响最大的最重要的热原监控点。

2.3 热原监控点内毒素控制水平的确定

合理地制定各热原监控点的内毒素控制水平，是建立热原监控体系最重要、最复杂的工作之一。制药企业需要根据自身的生产条件及工艺水平来制定合理的内毒素控制水平。控制水平过低，不能保证终产品的热原检查合格；控制水平过高，生产条件或工艺水平不适应，或者导致至生产成本增加。

一般来说,制定各监控点的内毒素控制水平,应遵循下述原则:

(1) 设终产品的内毒素限值为  $EL$ , 各监控点的内毒素控制水平为  $EL_x$ , 则应  $EL_x < EL$ 。

(2) 某些原料或中间体在其后的生产工序中将要被稀释, 计算其稀释后的内毒素含量  $E_D$ , 如果  $E_D < 1/4EL$ , 可以允许该原料或中间体的  $EL_x > EL$ 。例如, 某种原料在生产过程将要按 1:10 的比例投入使用, 如果  $EL$  为 0.5mL, 可以允许该原料的  $EL_x$  为 1.25Eu/mL。

(3) 如果能确实保证在除热原工序后的内毒素含量至少低于  $1/2EL$ , 可允许该工序前的  $EL_x$  适当大于  $EL$ 。

(4) 在制定各监控点  $L_x$  时, 应注意热原具有积累性, 逐道工序的污染会使中间体的热原含量逐渐增加。

#### 2.4 重要的试验——干扰试验

在细菌内毒素检查法中有一项重要的试验——供试品干扰试验。此项试验在 USP 中被称为抑制或增强试验。同样地, 将鲎试验法应用于生产质控, 在建立内毒素监测体系时, 此试验是必不可少的。

鲎试剂能与极其微量的内毒素反应, 对内毒素有相当高的灵敏度。鲎试剂灵敏度的测定是在以纯水为反应介质中进行的, 但实际使用时反应介质往往不是纯水, 而是样品溶液。样品溶液的浓度、成份、PH 值等因素可能会对鲎试剂与内毒素的反应产生干扰, 影响到检查的准确性。有效的鲎试验必须包括对被检查对象——样品作干扰试验, 以确定样品对检查是否存在干扰。

在生产过程质控中, 许多原料、中间体的浓度、成份及 pH 值往往对鲎试验影响甚大, 需要对样品作一定倍数的稀释以及选择适当灵敏度的鲎试剂才能消除样品对检查的干扰。但这种稀释是有一定限度的, 与鲎试剂的灵敏度 ( $\lambda$ ) 及  $EL_x$  有关:

$$MVD = \frac{EL_x}{\lambda}$$

上式中 MVD 为样品的最大有效稀释。从上式中可看出, 对于确定的  $EL_x$ , MVD 与  $\lambda$  有关, 不同的  $\lambda$  值有不同的 MVD 值。

在生产质控中, 对样品的干扰试验方法与细菌内毒素检查法中的供试品干扰试验的方法有许多不同之处, 我们称前者为初筛试验。

以下以凝胶法鲎试验为例, 介绍在建立生产质控的热原监测体系时, 对原料及中间体样品进行初筛试验的方法, 其步骤如下:

(1) 确定热原监测点的内毒素控制水平  $EL_x$

(2) 抽取监测点的适量样品

(3) 以鲎试剂灵敏度 0.5Eu/ml 为基准灵敏度 ( $\lambda_{0.5}$ ), 计算样品相应的最大有效稀释:

$$MVD_{0.5} = \frac{EL_x}{\lambda_{0.5}}$$

(4) 以  $MVD_{0.5}$  为样品检查的起始浓度, 用无热原水 (以下简称水) 将样品等倍稀释成下述两个系列的样品溶液:

**NC 系列:** 用水将样品稀释成  $MVD_{0.5}$ ,  $MVD_{0.25}$ ,  $MVD_{0.125}$ ,  $MVD_{0.6}$ ,  $MVD_{0.05}$  的系列浓度。例如假设  $MVD_{0.5} = 1:8$ , 则将样品稀释成 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 的浓度系列。

**PPC 系列:** 将样品稀释成与上述 NC 系列相同浓度系列, 但在稀释过程中每一浓度样品都加入标准内毒素, 使每一浓度的样品都含有  $2\lambda$  的内毒素。假设试验所用鲎试剂的灵敏度  $\lambda = 0.25Eu/ml$ , 则每一浓度样品都应含有 0.5Eu/ml 的标准内毒素。(注意: 试验用的鲎试剂灵敏度可以任意选择, 与步骤 (3) 的基准灵敏度无关。)

(5) 取灵敏度  $\lambda = 0.25Eu/ml$  的鲎试剂分别与 NC 及 PPC 两个浓度系列的样品反应, 每个浓度重复两反应管。

初筛试验可能会出现下列较典型的四种结果: (假设  $MVD_{0.5} = 1:8$ )

样品浓度			MVD <sub>0.5</sub>	MVD <sub>0.25</sub>	MVD <sub>0.125</sub>	MVD <sub>0.06</sub>	MVD <sub>0.03</sub>
			1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
反	A	NC	--	--	--	--	--
		PPC	++	++	++	++	++
应	B	NC	--	--	--	--	--
		PPC	--	--	++	++	++
结	C	NC	++	++	++	++	++
		PPC	++	++	++	++	++
果	D	NC	--	--	--	--	--
		PPC	--	--	--	--	--

分析:

**结果 A:** NC 系列反应的结果全是阴性, PPC 系列全是阳性, 表明此样品对鲎试验无干扰的有效浓度范围在 1: 8 ~ 1: 128 倍稀释之间。在此有效浓度范围内, 可以选择  $\lambda = 0.5 \sim 0.03\text{Eu/ml}$  灵敏度的鲎试剂对相应 MVD 浓度的样品检查。

**结果 B:** NC 系列反应的结果全是阴性, PPC 系列的反应在样品 1: 32 倍稀释开始才出现阳性, 表明较高浓度的样品 ( $\leq 1: 16$  倍稀释) 对鲎试验有抑制作用; 对鲎试验无干扰的有效浓度范围在 1: 32 ~ 1: 128 倍稀释之间, 且只能选择灵敏度  $\lambda = 0.125 \sim 0.03\text{Eu/ml}$  的鲎试剂对相应 MVD 浓度的样品检查。

**结果 C:** NC 和 PPC 两个系列的反应结果全是阳性。导致这种结果的原因可能有两种: 一是样品本身的内毒素 (热原) 含量  $\geq 32\text{Eu/ml}$  ( $\lambda \times 128 = 0.25\text{Eu/ml} \times 128 = 32\text{Eu/ml}$ ); 二是样品对鲎试验有增强作用, 阳性结果属假阳性。

**结果 D:** NC 和 PPC 两个系列的反应结果全是阴性, 表明样品被稀释至 1: 128 倍仍对鲎试验有抑制作用。

如果初筛试验出现结果 C 的假阳性 (增

强) 及结果 D 的假阴性 (抑制) 两种情况, 表明该样品已经不能通过稀释来消除对鲎试验的干扰, 须寻求其它方法去消除样品的干扰因素。关于消除样品干扰因素的方法, 将另撰文介绍。

通过初筛试验, 可以确定日后对样品作常规检查的两个主要参数: 1、样品有效浓度或有效稀释范围; 2、相应的鲎试剂灵敏度。需要说明的是, 初筛试验只是在建立热原监控体系时必须作的试验。监控体系一旦建立, 生产条件及工艺处于稳定状态, 就无需再做初筛试验。但是如果原材料、配方、工艺及生产条件有改变, 应对处于变动环节的监测点重做初筛试验; 更换鲎试剂的来源也要重做初筛试验。

#### 2.5 生产过程热原监控的常规检查

热原监控体系属质量管理体系的组成部分, 将随生产的运行而运作。热原监控的日常工作包括:

- 1、取样
- 2、鲎试验检查
- 3、结果分析
- 4、将信息反馈至生产控制系统

由于经过初筛试验已经确定样品的稀释倍

数及鲎试剂的灵敏度，日常的监测检查与现行药典的细菌内毒素检查没什么区别。对于凝胶法鲎试验，如果使用的是同一批号的鲎试剂及同一批号无热原水，无论日常检查的样品数量有多大，只做一管阳性对照（PC）和一管阴性对照（NC）即可，但每个样品应增加至少一支阳性产品对照管（PPC），如下表：

样品编号	1	2	3	4	...
样品检查管	○	○	○	○	...
	○	○	○	○	...
PPC管	○	○	○	○	...
PC管	○				
NC管	○				

关于阳性产品对照管（PPC）的做法，实际上与初筛试验的 PPC 系列相同，即 0.1ml 含 2λ 标准内毒素的样品与 0.1ml 鲎试剂反应。反应结果如果是阴性（-），该样品的检查结果无效。



新产品介绍

## 阳性对照内毒素

在做细菌内毒素检查时，要用到内毒素工作品（CSE）作鲎试剂灵敏度复核、干扰试验阳性对照以及阳性产品对照。CSE 的效价往往比鲎度剂的灵敏度大得多，一般为 10 ~ 100EU/支，所以在做检查时要做很多倍的稀释才能使用。在日常的细菌内毒素检查操作中，稀释内毒素耗费的时间最多。为了方便检查操作，本公司推出一种低效价的 CSE—阳性对照内毒素。

阳性对照内毒素是效价为 1.0EU/支或 0.5EU/支的冻干品。如果检查用的鲎试剂灵敏度  $\lambda = 0.5EU/ml$ ，可选用 1.0EU/支的阳性对照内毒素，加 1.0ml 无热原水复溶后，

### 3、鲎试验方法的选择

药典收载的细菌内毒素检查法的法定方法为凝胶法，其它方法可以采用，但需做比较试验，以凝胶法的结果为准。目前得到官方批准使用的鲎试验方法有如下几种：

- a、凝胶法（Gel - Clot Method）
- b、终点显色法（End - Point Chromogenic Method）
- c、动态显色法（Kinectic Chromogenic Assay, KCA）
- d、动态浊度法（Kinetic - Turbidimetric Assay, KTA）

以上方法的基本原理均是利用细菌内毒素与鲎试剂的酶反应。各种方法的准确性和特异性相似，但在灵敏度上有差异。世界卫生组织（WHO）确立的第二批内毒素国际标准品（IS）的效价为 10,000IU/瓶或 10,000EU/瓶，对上述几种方法都适用。以下介绍各种方法的特点（略）。

（参考文献略）

在旋涡混合器上混合 5 分钟，就成为 2λ 浓度的内毒素溶液，用作阳性对照。如果鲎试剂的灵敏度  $\lambda = 0.25EU/ml$ ，可选用 0.5EU/支的阳性对照内毒素，加 1.0ml 无热原水复溶后混合 5 分钟，就得到 2λ 浓度的内毒素溶液。当然，也可以使用 0.5EU/支的阳性对照内毒素，加 0.5ml 无热原水复溶，得到 1.0EU/ml 浓度的内毒素溶液。

阳性对照内毒素的效价是使用内毒素国家标准品和鲎试剂参考品严格标定，且稳定性好。该产品也适用于鲎试剂灵敏度的复核。

湛江安度斯生物有限公司

—鲎试剂应用与进展

# 甲硝唑的细菌内毒素检查法浅析

刘冰 综述

甲硝唑是继葡萄糖之后,进行鲎试验研究的新热点,大量的试验都肯定了鲎试验代替其热原检查的可行性,现就有关试验综述如下:

首先在确定甲硝唑制剂的内毒素限值 L, 计算 L 值的方法有如下两个常用方法, 见下表:

甲硝唑制剂的内毒素限值

浓度 C	5% 甲硝唑 (5mg/ml)	0.2% 甲硝唑 (2mg/ml)	
品 种	甲硝唑注射液	甲硝唑注射液	甲硝唑葡萄糖注射液
规 格	10ml:50mg 20ml:100mg 100mg:50mg* 250ml:1.25g	250ml:500mg	250ml:500mg* + 12.5g 葡萄糖
热原检查剂量	3ml/kg	10ml/kg	
$L = \frac{K}{M}$	L = 1.67Eu/ml 或 0.33Eu/mg	L = 0.5Eu/ml 或 0.25Eu/mg	
《医院制剂规程》和《临床用药须知》中规定首剂最大为 15mg/kg 即 M = 15mg/kg		L = 0.33Eu/mg 甲硝唑	

\* 《中国医院制剂规程》中收录的规格

L 值的使用笔者认为 (一) 应采用 Eu/mg 单位表示, 使用 Eu/ml 单位会因产品浓度规格不同而有不同的 L 值。(二) 计算 L 值应采用《须知》中最大人体剂量作为 M 值, 很明显的道理, 药品是用于人而不是兔子, 再者《须知》中“剂量”已被卫生部批准为管理药品的依据, 有法定效力, 其它与《须知》不符的标准应以《须知》为准; 至此可确定 L = 0.33Eu/mg。

甲硝唑的干扰比较容易消除, 有些试验报道 0.5% (5mg/ml) 浓度即无抑制, 但多数情况下要稀释到 ≤ 0.1% (1mg/ml) 时抑制才完全消除, 个别试验中甲硝唑葡萄糖注射液会有增强作用, 须稀释 8 倍才消除, 这种增强只是个案, 有可能是葡萄糖中的污染物引起的; 不同厂家的产品及选用不同的鲎试剂会产生不同的干扰情况, 这就要求必须针对自己的产品及试验条件, 用试验筛选检查法并加以验证; 检查法的验证包括至少三批同一产品的干扰试验, 证实检查法无干扰因素存在后, 检查法即可确立; 同一浓度及配方的其它规格产品可直

接使用该检查法而不必再验证, 但 0.2% 浓度的两个品种则要分别进行检查法试验和验证, 因为 0.2% 的甲硝唑葡萄糖注射糖与 0.2% 的甲硝唑注射液具有不同的配方。

附: MVD 计算举例

100ml:50mg 的甲硝唑注射液

$L = 0.33Eu/mg$

产品浓度 C = 5mg/ml

鲎试剂  $\lambda = 0.25Eu/ml$

$MVC = \frac{\lambda}{L} = 0.75mg/ml$  (在此浓度下一般无干扰)

$MVD = \frac{C}{MVC} = 6.67$

## 参考文献

- 张凤仙等 海峡药学 1996 8 (3) 16
- 周波 广东药学院学报 1996 12 (2) 91
- 于晓秋等 佳木斯医学院学报 1996 19 (3) 43
- 杜玉升等 洛阳医学院学报 1996 15 (2) 85
- 朱晓洪 实用医学杂志 1995 11 (12) 804
- 孙金平等 药学实践杂志 1995 13 (5) 300
- 第一届全国 BET 研究与应用学术会议论文及摘要汇编 (1997)

# 对药品细菌内毒素检查限值规定的 的几点意见

朱济广\* (卫生部药典委员会)

采用鲎试剂与细菌内毒素形成凝胶反应检查药品、生物制品和医疗器械中的致热物质,已受到世界各国的普遍重视,并日益广泛地载于标准中,形成替代热原检查的趋势。美国药典 23 版收载细菌内毒素检查法的品种已达 470 多种,而采用热原检查法仅 30 多种;英国药典 1993 年版收载该法检查的品种尚少,但其后每年出版的增补本(1994 - 1997)中则明显增多,已有 40 多种,特别是抗生素、右旋糖酐、肝素等热原检查法已被细菌内毒素法所替代。由于该法灵敏度高且简便易行,重现性好,并可节省大量动物,因此比较容易推广应用,对一些原来难以测定或不能测定致热物质的产品,提供了检测的可能,使过去采用热原检查法仅限于静脉注射或静脉滴注的药品有所改变,从而很大程度上提高了药品使用的安全性。

中国药典 1995 年版附录首次收载了细菌内毒素检查法,目前放射药和四个大输液采用了此法,与国外药典相比,显然是比较少的。第七届药典委员会讨论确定的 2000 年版的药典设计方案中,已将细菌内毒素检查法的应用提到重要位置,各专业委员会扩大会议安排落实 2000 年版药典任务中,分别对化学药、抗生素、生化药中的一些品种进行了布置。以下仅就细菌内毒素的限值规定等有关问题作一些探讨。

## 一、关于细菌内毒素限值的规定

细菌内毒素限值的规定,不仅对保证被检物品的安全使用十分重要,而且关系到正确判

断产品的合格与否,与国际贸易和对外技术交流亦有着密切关系,因此,目前我国编篡 2000 年版药典中准备扩大使用这一方法时,科学地合理的确定细菌内毒素的限值是一个需要明确统一的重要课题。

当今世界各国普遍采用细菌内毒素的限值(L)的计算公式为: $L = K/M$

式中 K:按规定的给药途径,成人每公斤体重每小时可以接受的不产生任何不良反应的最大细菌内毒素剂量(亦称致热阈)。

M:按规定的给药途径,成人每公斤体重每小时给药的最大剂量(ml/kg, mg/kg, 或 u/kg)。

非肠道给药的注射药致热阈 K 值规定值为 5Iu/kg,这一剂量起始于家兔产生致热反应剂量,后来被美国、日本、欧洲等国把它作为人用致热剂量的限值。欧、美人平均体重规定为 70kg,即一种注射药每小时细菌内毒素的量不超过 350Iu,比一般人用中毒反应剂量 1000 Iu 小二倍。因此以家兔致热阈 K 值为 5 Iu/kg 作为人用统一的限值标准,对常规药品的安全性是有保证的。细菌内毒素单位 WHO 以“Iu”标示,欧洲药典、英国药典以 u 标示,美国药典以 USP EU 标示。经国际协作标示,单位的标示已取得一致,即 1Iu = 1u = 1USPEU。

M 值是以成人每公斤体重每小时给药的最大剂量来计算的。按照以上规定,美国药典、英国药典和欧洲药典热原检查改为细菌内毒素检查法,一般都是以人用最大剂量而不是以家兔

\* 作者是药典委员会原秘书长,主任药师。

剂量来计算 M 值。虽然欧、美等国平均体重均规定为 70kg,但用药剂量不尽相同,因此 M 值也有所不同,所以除少数品种外,大多数情况同一种药品在不同国家药典中细菌内毒素限值的规定是有差异的,现将美国药典与英国药典部分同品种注射剂细菌内毒素限值的列表比较,见表(二)

我国 1995 年版药典中的注射用水、氯化钠注射液与部颁标准中 5% 和 10% 葡萄糖注射液细菌内毒素限值是以家兔注射剂量计算,均为 0.5IU/ml,因这三个品种均为大剂量注射剂,家兔剂量和人用量相近,所以限值也比较接近,但对其他注射量较小的品种,以家兔剂量和人用剂量分别计算细菌内毒素的限值,则可能有很大的差异;以玻璃酸酶为例,家兔热原检查每公斤体重注射 250IU/ml,按兔剂量计算其限值, $L = 5/250 = 0.002IU/\text{每单位}$ ,根据中国药典 1995 年版《临床用药须知》玻璃酸酶人用一次最大剂量不超过 1500 单位,按中国人平均体重 60 公斤计算,每公斤体重注射最大剂量为 25 个单位, $L = 5/25 = 0.2IU/\text{每单位}$ ,二者相差 100 倍。

在国内某些资料中提出细菌内毒素检查法“代替药典品种热原检查时,按家兔剂量计算;建立新制品的内毒素限值按人用剂量计算”笔者认为对这点提议需要商榷,因为有的品种按家兔剂量、有的品种按人用剂量计算细菌内毒素限值,势必在一部药典中使限值的的规定不统一,并会造成高低悬殊;况且家兔剂量往往高出人用剂量的几倍甚至 10 倍,如以家兔剂量来计算细菌内毒素限值,必然会使有些品种像上述玻璃酸酶脱离临床实际,造成有些合格产品被判为不合格;反之,若家兔剂量规定不当,接近或小于人用剂量,又会导致把不合格产品判为合格。

因此,笔者认为,细菌内毒素限值的规定应与国际标准协调一致,统一以人用最大剂量来计算是比较合理的,同时还必须从中国临床用药的实际出发,不能不加区分地把同品种国外药典的规定限值移至中国药典,或者要求中国

药典规定的限值要符合同品种国外药典的标准,更不能用限值的高低来衡量标准的水平;因为中国人均体重是以 60kg 计,且人种和环境的不同等,必然用药剂量与欧美国家有所不同,所以每一种药品细菌内毒素限值不能要求与国外药典完全一致,即使美国药典和英国药典同一品种的细菌内毒素的限值也存在明显差别(见表二),这是各国药典中唯一与其他生物和化学分析方法所不同的一项有特点的检测方法。

## 二、细菌内毒素检查法和热原检查法的比较

热原检查法的试验结果往往受到家兔之间个体的差异,如种群、性别、年龄以及环境和饲料等的影响,标准化十分困难;另外,家兔注射剂量是以人用计量的倍数确定的,能否反映产品中致热物质的效应,并非都是确切的依据。细菌内毒素法是利用鲎试剂与革兰氏阴性细菌内毒素的生化反应而测出细菌内毒素含量的一种体外方法,此法自 1983 年由美国 FDA 开始批准使用以来,其应用扩展迅速,大量热原检查法已被取代,成为检测药品和医疗器械中致热物质的主要方法,该法有家兔法不可比拟的优点,但肯定细菌内毒素检查法并不是对热原检查法的完全否定,在细菌内毒素测定中不能排除干扰因素的品种,仍需采用热原检查法来控制质量。

我国对细菌内毒素检查法的研究几乎与美国 FDA 批准使用的时间同步,但扩大应用进展较慢,除鲎试剂质量及内毒素标准品存在一些问题外,过去有一段时间对细菌内毒素检查法能否替代热原检查存有疑虑,担心阳性样品漏检,又怕其过于灵敏造成大量产品不合格使厂家蒙受经济损失,所以在采用细菌内毒素检查法进行葡萄糖和氯化钠注射液的致使热物质检查时,做了上万批两法的比较试验,虽未发现细菌内毒素检查法有漏检情况,但为了慎重起见预防万一,在部颁标准中规定,凡细菌内毒素检查法检出阳性样品要以热原检查法进行复试。1995 年版药典将该法收入附录,并删去这一复

试步骤。

1997年6月CR. Endosafe公司创始人Dr. James F. Cooper来华讲学提供的材料指出,美国Baxter公司对其生产的静脉注射液和医疗器械曾经做过143,185批细菌内毒素检查法和24,410批热原检查法的比较,结果:有热原反应的,两法均为阳性;没有发现细菌内毒素法为阴性,而热原检查法为阳性;多数的内毒素致热物质用细菌内毒素检查法能测出,而家兔法不能测出;用家兔往往出现模棱两可的结果,而细菌内毒素再现性较好。

因此,没有必要再做大量热原检查法对比,欧洲药典在细菌内毒素检查法指导原则中曾提出至少选用三批不同批号的样品进行两法试验对比,也说明不需要再过多地对比热原检查。笔者认为,应根据不同品种,科学地、有目的地进行两法对比,不需统一规定做多少批家兔热原检查。

### 三、要结合国情确定品种收载细菌内毒素检查法的原则

1995年版药典药品致热物质检查主要是热原检查法,化学药、小针剂不论是否用作静脉注射或静脉滴注基本上不规定热原检查。为保证药品使用的安全,2000年版药典设计方案提出“静脉滴注的小针剂要逐步增订细菌内毒素检查”并提出“对生物测定的某些品种,应研究推广使用比较成熟的化学方法、仪器分析方法或细胞学方法,减少动物试验”为实现这一目标,各有关专业委员会虽然已选定一些品种进行考察,但有必要从整体上进一步明确奋斗目标。

首先,要参照国外药典,对我国现行版药典收载热原检查法的品种共计104种(见表三),其中化学药31种,抗生素和生化药(含原料)等共有73种,有重点选择一些品种进行考察研究,凡是国外药典已改为细菌内毒素检查法的品种建议尽可能与国外标准接轨,特别是抗生素类药物更应注意这一点,否则,2000年版药典再继续大量采用热原检查法,不仅会进一步拉

大与国外药典的差距,而且也不利于国际技术交流和对外贸易。

其次,2000年版药典设计方案提出对静脉滴注小针剂增订细菌内毒素检查的要求是切合实际的,对于作静脉滴注的药品,在1995年版药典中没有热原检查的品种大约有30多种,主要是化学药(见表四),可选择其中少量品种借鉴国外药典进行研究,争取能收入2000年版药典中,以提高标准水平。

第三,对其他静脉注射给药的品种可考虑将使用剂量较大的品种(见表五)酌情分别进行考察。

美国药典对非肠道给药的注射剂,普遍收载细菌内毒素检查项,欧洲药典主要是用于静脉注射给药的品种;中国药典2000年版不可能也不必照搬外国的经验。笔者认为如能对上述类别的品种重点进行考察,积累经验,对扩大细菌内毒素检查法的应用将会产生积极的效果,并能逐步总结出适合中国国情的收载原则。

### 四、关于细菌内毒素检测方法的采用

当前国外对细菌内毒素检查法的研究比较重视,有关报道发表很多,欧洲药典1998年分册修订的细菌内毒素检查法收载了五种方法,即:A·凝胶法限度试验、B·半定量凝胶法、C·动态比浊法、D·动态产色法、E·终点产色法,但明确提出,在各论中选用凝胶法限度试验,已进行过产品确证试验,如在各论中采用其它任何一种方法,那么,这种方法对这种产品亦已进行过验证,并要在各论中加以叙述;日本药局方第13版虽收载凝胶法、比浊法和比色法,但各论采用极少;美国药典23版仅收载一种凝胶法限度试验,与中国药典1995年版相同,说明凝胶法限度试验仍是当前各国药典普遍采用的一种成熟的方法。

为保证2000年版药典能有较多的品种采用细菌内毒素检查法,建议仍以现行版药典的附录凝胶法限度试验考察品种,对其他方法,有条件的单位可进行研究,避免分散力量。



表二\*

USP 和 BP 同品种注射细菌内毒素限值比较

品名	USP - 23	NF - 18	BP1993 及其增补(94S ~ 97S)	
	剂量(M)	限值(Eu/mg、ml、unit)	限值(Eu/mg、ml、unit)	原免法(注射量)
羧苄西林 Carbenicillin	100.00mg	0.05Eu/mg	0.5u/ml(95S)	6mg/ml
头孢噻肟 Cefotaxime	28.50mg	0.20Eu/mg	0.5u/ml(96S)	
头孢噻啉 Cephalexin	14.30mg	0.35Eu/mg	3.49/ml(96S)	50mg/ml
氯唑西林 Cloxacillin	12.50mg	0.40Eu/mg	4.0u/ml(96S)	6mg/ml
呋塞米 Frusemide	1.40mg	3.60Eu/mg	35u/ml(96S)	10mg/v
氟氯西林 Flucloxacillin			3.5/ml(96S)	6mg/ml
庆大霉素 Gentamicin	鞘内注射 0.11mg 3.0mg	45.46Eu/mg 1.70Eu/mg	16.7u/ml(96S)	> 10mg/ml
高血糖素 Glucagon	0.04units	125.00Eu/u	116.67u/ml(95S)	0.2u/ml(不少于)
葡萄糖 Glucose	0.50 (5 ~ 70%)	10.00Eu/g	0.25u/ml (5% W/V)(94s)	0.5g/V
肝素 Heparin	143.00unite	0.03Eu/u	100u/ml(95S)	2,000u/V
玻璃酸酶 Hyaluronidase	2.14units	2.30Eu/u	300u/ml(95S)	250u/5ml
链激酶 Streptokinase	3000.00units(local) 1000.00units(M)	0.002Eu/u 0.005Eu/u	23.33u/ml(94S)	20,000u/ml
万古霉素 Vancomycin	15.00mg	0.33Eu/mg	2.5u/ml(97S)	10,000u/ml
链霉素 Streptomycin	20.00mg	0.25Eu/mg	2.5u/ml(97S)	4.8mg/2ml
林可霉素 Lincomycin	10.00mg	0.50Eu/mg	5.0u/ml(97S)	0.5mg/ml
鱼精蛋白 Protamine	0.71mg	7.04Eu/mg	70u/ml(97S)	10mg/V
右旋糖酐 Dextran40	5.00ml	1.0Eu/ml	10u/g(96S)	10ml
右旋糖酐 Dextran60			16u/g(96S)	10ml
右旋糖酐 Dextran70	10.00ml	0.50Eu/ml	16u/g(96S)	10ml
复方乳酸钠 Compound Sodium Lactate			0.25u/ml	10ml
缩宫素 Oxytocin(原料)	0.14units	35.70Eu/u	100u/200units	
胰岛素 Insulin(原料)		20Eu/mg	10u/mg	
注射用水 Water for Injection		0.25Eu/ml	0.25Eu/ml	10ml/kg
氯化钠注射液 Sodium Chloride Injection(0.45 ~ 0.9%)	10.00ml	0.5Eu/ml	0.25u/ml (0.9% W/V)	10ml/kg
乳酸钠 Sodium Lactate	2.40mEq	2.00Eu/mEq	0.25u/ml	10ml/kg
胰岛素注射液		80Eu/100u		

\* 因篇幅有限,表一、三、四、五从略,有需要者可来函索取。

## 中国细菌内毒素检查法考察组赴美国考察\*

应美国药典公约组织 (USPC)、美国食品药品监督管理局 (FDA) 以及美国查士利华公司 (Charles River Laboratories) 的邀请, 卫生部有关部门及有关企业一行四人于 1998 年 1 月 16 日至 27 日赴美国考察美国实施细菌内毒素检查法的状况。考察组由中国药品生物制品检定所放射药品室主任王思理高级工程师领队, 成员有中检所黄清泉主管药师, 卫生部药典委员会原秘书长朱济广主任药师, 以及湛江安度斯生物有限公司总经理冯聚锦高级工程师。

考察组在美期间先后访问了 USPC 和 FDA。USPC 和 FDA 的有关官员对考察组的访问非常重视。FDA 生物制品质控评价与研究中心前主任、国际著名的研究细菌内毒素检查法的专家 Hochstein 博士向考察组详细介绍了美国细菌内毒素检查法的发展及现状, 以及鲎试剂质控的方法与经验。USPC 执行主管霍尔珀林先生, 副总裁兼标准制定主任格雷迪博士等五人专门安排时间会见了考察组, 详细介绍了美国药典细菌内毒素检查法的制定过程及发展。



考察组还考察了美国著名的鲎试剂企业 Endosafe® 公司的鲎试剂生产及质控情况, 并与该公司的环球科技顾问詹姆斯·弗·库珀博士就有关细菌内毒素检查的学术问题进行了讨论。

考察组通过这次赴美考察, 进一步了解到美国实施细菌内毒素检查法的做法及经验, 对促进我国细菌内毒素检查法的发展有重要的借鉴作用。

## 全国医院药学学术会议在海口召开

为了交流医院药学专业人员的学术成果和工作经验, 发掘医院药学专业人材, 促进药学事业发展, 中国药学会医院药专业委员会于 1997 年 12 月中旬在海口市召开了“全国医院药学学术会议”。来自全国各地的 300 多位医

院药学界的同仁参加了会议并进行了学术交流。湛江安度斯生物有限公司总经理冯聚锦高级工程师应大会的邀请作了“鲎试剂在药品生产过程热原控制上的应用”的专题报告, 受到了与会代表的好评。

**学习班消息:** 广州市、上海市、浙江省、海南省、黑龙江省、吉林省药品检验所将于 98 年 3~6 月份分别举办细菌内毒素检查法 (BET) 学习班, 学习班的主要内容: 细菌内毒素检查的发展概况; 供试品干预试验和消除干扰的方法; 避免检查结果假阴性和假阳性的技术措施; 介绍一些常用注射药品的检验方法; BET 在药品生产质控上的应用; BET 定量检测法; 有关法规的讨论等。

\* 本刊下期将登载考察组撰写的美国细菌内毒素检查法考察报告。

## 湛江安度斯生物有限公司产品价格目表

(1997年12月15日起执行)

产品类别: 鲎试剂 (TAL) 及其配套产品系列

货号	品名	规格	价格
B-109	0.1ml TAL	10支/盒	4.00/支
B-115	0.5ml TAL	10支/盒	15.00/支
B-116	1.0ml TAL	10支/盒	28.80/支
B-117	2.0ml TAL	5瓶/盒	66.00/瓶
B-104	5.2ml TAL	5瓶/盒	170.00/瓶
B-309	0.1ml 特异性鲎试剂	10支/盒	5.00/支
B-315	0.5ml 特异性鲎试剂	10支/盒	18.00/支
B-201	细菌内毒素检测盒	12次试验	75.00/盒
B-402	肝素钠细菌内毒素检测盒	10次试验	75.00/盒
B-502	FDP细菌内毒素检测盒	10次试验	120.00/盒
E-101	内毒素工作标准品 (液体)	1.5ml/支	2.00/支
E-102	内毒素工作标准品 (冻干)	10支/盒	3.00/支
E-103	阳性对照管	10支/盒	3.00/支
E-201	内毒素指示剂	2KEU-100KEU	25.00/支
W-105	细菌内毒素检查用水	5.0ml/支	0.80/支
W-106	细菌内毒素检查用水	2.0ml/支	0.40/支
W-103	细菌内毒素检查用水	100ml/瓶	13.00/瓶
F-101	稀释剂	4.0ml/支	2.00/支
F-102	抗增液	0.6ml/支	4.00/支
S-101	精密型移液器 (可调)	200-1000ul	120.00/支
S-103	精密型移液器 (可调)	50-250ul	120.00/支
S-104	普通型移液器 (可调)	50-250ul	50.00/支
S-110	无热原吸头	250ul	0.25/支
S-111	无热原吸头	1000ul	0.45/支
S-301	无热原空安瓿	5ml	0.30/支
S-302	无热原空安瓿	2ml	0.20/支
S-202	旋涡混合器	XW-80A(上海产)	398.00/台
S-203	旋涡混合器	WH-1 (上海产)	300.00/台
S-401	试管浮板	10孔	0.50/块

说明: 1. 鲎试剂灵敏度有: 10、1.0、0.5、0.25、0.125、0.06、0.03、0.015 EU/ml。

2. 0.5ml 规格以上鲎试剂既适用于凝胶法检查也适用于浊度法检查。

3. 所有鲎试剂使用抗增液复溶后即成为特异性鲎试剂, 可消除 G 因子旁路反应。每支抗增液可复溶 5 支 0.1ml 鲎试剂或 1 支 0.5ml 鲎试剂。

4. 细菌内毒素检测盒配备全部试剂及用具, 无需准备即可检测。

5. 内毒素工作标准品的效价为 10EU/支, 20EU/支, 200EU/支。

6. 阳性对照管的效价为 1.0EU/支, 0.5EU/支, 复溶后不用稀释即可作阳性对照。

7. 内毒素指示剂用于干热烘箱除热原效果检查。

8. 无热原吸头的包装为: 250ul 2 支/包装; 1000ul 1 支/包装。

9. 2ml 无热原安瓿可作反应试管使用, 5ml 无热原安瓿可作样品或内毒素稀释瓶使用。

注: 1. 以上价格不包括国内运保费。 2. 如需开增值税发票, 请告知纳税人登记号

## 技术服务承诺

湛江安度斯生物有限公司对亚洲市场和国内市场持有远期的目标和具体的实施计划。我们对中国细菌内毒素检查项目的贡献不仅体现在大量资金的投入,还体现在以先进的技术以及良好的商业信誉为基础,为用户提供品质卓越的鲎试剂产品及良好的技术支持。为此,我们成立了跨部门机构“技术支持部”,向我们的用户提供完善的、始终如一的服务。

**1、提供最新的学术资料和相关信息** 我们掌握专业知识的翻译人员不断地追踪着国内外细菌内毒素检查法的发展和动态,定期编辑《鲎试剂的应用与进展》免费发送给用户;根据用户的不同需要提供分类的检查方法资料和资料索引(文献题录);提供国内外最新的细菌内毒素检查学术动态(协作、会议、学习班)及会议材料。

**2、提供全面技术培训** 我们将各地药品监督机构合作举办有关细菌内毒素检查法

的培训及应用技术高级研讨班;常年接受用户到本公司培训,派出技术人员上门向用户提供现场的技术服务。

**3、提供具体品种的检查方法** 提供具体品种的检查方法;接受用户寄送样品帮助建立检查方法;协助用户建立药品生产过程的细菌内毒素监控方法。

**4、提供详尽的咨询服务** 仔细聆听和解答用户的咨询;解决用户在使用过程中遇到的具体问题及质量投诉。

**5、提供检测服务** 接受用户的寄样检查委托。

作为一个提供生物技术产品的企业,我们理解用户的需要总是独特的。我们经验丰富的技术人员将竭尽全力为鲎试剂用户提供最有效的技术支持和尽善尽美的售后服务。

湛江安度斯生物有限公司

一九九八年二月

## 征稿启事

本刊第一期发行后得到了全国广大读者的热烈反响,对我们的工作给予了肯定并提出许多宝贵意见,同时把自己的工作经验、研究成果(论文)等寄来了给我们,编辑组的全体工作人员对你们的热情支持表示衷心感谢并希望继续得到你们的来稿。我们将对来稿进行仔细的审核并在以后的《进展》中给予刊出,对于暂时未能登出的我们将在适当的时候合编印成《论文集》提供给广大读者交流。

来稿请寄:湛江安度斯生物有限公司《进展》编辑组  
广东湛江市人民大道中38号 邮编:524022  
电话:(0759) 3380671、3380672 转 8028  
传真:(0759) 3380671、3380672 转 8668