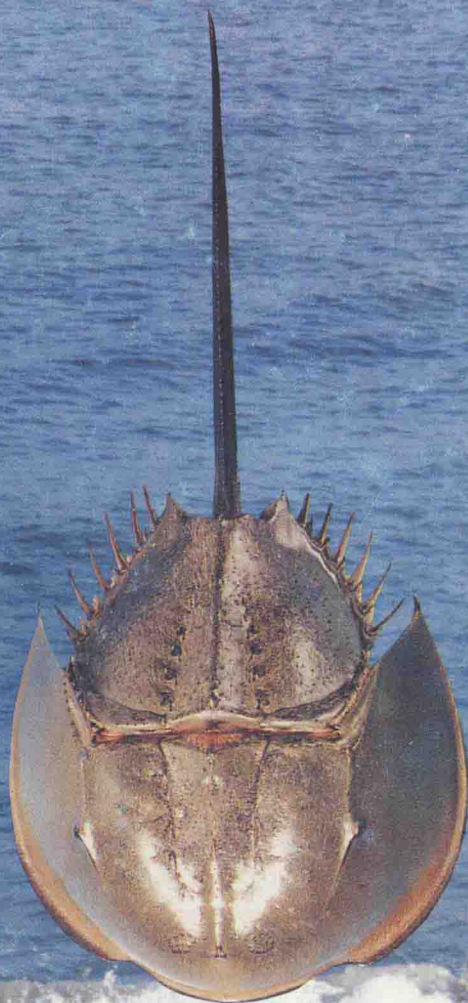


法 驗 試 驗 堂 典 堂

編 文 匯 編 (三)

贈 閱

1996



廈門 驗 試 劑 廠 吳 偉 洪 編

目 录

一、发送关于细胞内毒素检查法和四种注射液热原检查等问题的会议纪要·····	卫生部药典委员会 (1)
二、热原检查法 ·····	中华人民共和国药典 (3)
三、细菌内毒素检查法 ·····	中华人民共和国药典 (5)
四、细菌内毒素检查法部标准 ·····	中华人民共和国卫生部 (8)
五、鲎试剂部标准 ·····	中华人民共和国卫生部 (11)
六、细菌内毒素检查法准则 ·····	中国药品生物制品检定所 (13)
七、“细菌内毒素检查法”系统工程的标准化(规范化)·····	中国药品生物制品检定所 王思理 (17)
八、中国药典细菌内毒素检查法培训班讲义 ···	中国药品生物制品检定所 夏振民 (34)
九、中国药典 1995 年版细菌内毒素检查法培训班讲义 ·····	····· (实验设计和实验操作部分)·····中国药品生物制品检定所 黄清泉 (48)
十、关于发送《医院消毒供应室验收标准(试行)》的通知 ·····	····· 卫生部(88)卫医字第 6 号 (78)
十一、细菌内毒素生产菌株的选择与稳定性探讨·····	····· 卫生部上海生物制品研究所 尹 行 过惠萍 金于兰 张亚达 (81)
十二、一种更敏感专一的重新组合鲎凝固酶原、BC 因子的试剂(简称鲎 BC 因子试剂)的 制备和测定 ·····	····· 厦门鲎试剂厂 吴伟洪 罗希远 (86)
十三、论鲎试验的假阳性·····	····· 空军后勤部药品检验所 郭建芳 中国药品生物制品检定所 夏振民 (91)
十四、鲎试剂用于复方氨基酸注射液—17 的细菌内毒素检测研究 ·····	····· 厦门市药品检验所 黄晓东 厦门鲎试剂厂 吴世鑫 (94)
十五、用鲎试剂检测 20%甘露醇注射液中内毒素的研究 ·····	····· 厦门市药品检验所 邓尚龙 黄晓东 厦门鲎试剂厂 吴世鑫 (100)
十六、甲硝唑注射液的细菌内毒素检测研究·····	····· 黄晓东 戴敬朴 邓尚龙 林 南 (104)
十七、地塞米松磷酸钠的鲎法细菌内毒素检测·····	····· 厦门药检所 黄晓东 林 南 李敏玲 翁鹭娜 厦门鲎试剂厂 吴世鑫 (108)

- 十八、鲎试剂用于 Cerebrolysin(脑活素)注射液的细菌内毒素检测研究
..... 厦门药检所 黄晓东 林 南 黄赐煌
..... 厦门鲎试剂厂 吴世鑫 (111)
- 十九、细菌内毒素检查法在生物制品质量控制中的初步应用
..... 卫生部上海生物制品研究所 尹 行 金于兰 过惠萍 张亚达 (116)
- 二十、鲎试剂有效期的观察探讨 厦门鲎试剂厂 吴世鑫 (118)
- 二十一、弃 G 因子鲎试剂检测肝细胞再生因子注射液及大输液研究
..... 北京军区总医院药剂科 孙佩芳 李燕红 赵芳荣 邸小辉
- 二十二、抗癌物质(1→3)- β -D-Glucan 多糖可使 LAL 凝固
..... Atsushi kakinuma 等 (122)
- 二十三、关于真菌多糖活化鲎试剂(G 因子)的探讨 宫 崎 幸 重等 (126)
- 二十四、用鲎凝固酶重组法制成的一种新的显色性内毒素特异性检测试剂及其临床应用
..... T. Obayashi 等 (134)
- 二十五、由免疫球蛋白制剂中所含的鲎试剂反应性物质引起的鲎试验假阳性反应
..... K. Ikemura 等 (143)
- 二十六、来自透析膜的鲎试验阳性物质 池屯胜美等 (149)
- 二十七、用内毒素特异的鲎试剂测定血液制剂中的内毒素量与家兔升温曲线的相关性...
..... 藤原博等 (155)
- 二十八、血中内毒素浓度测定法 稻田捷也等 (165)
- 二十九、用鲎试验法测定血浆细菌内毒素的最佳条件的探讨
..... R. I. Roth, F. C. Levin 等 (170)
- 三十、用 LAL 试验检测时,热对血浆中和无热原水中内毒素的影响
..... B. I. Piotrowicz 等 (179)
- 三十一、用 LAL 法检查注射药中含内毒素时,冷藏和搅拌对测定的影响
..... Dennis E. (182)
- 三十二、用亲和层析法从溶液中除去革兰氏阴性内毒素 Andrew C. Issekutz (188)
- 三十三、除去蛋白溶液中污染的内毒素的新方法 Thomas E. (192)
- 三十四、用鲎试验对加热人血浆蛋白制剂中内毒素含量的定量检测与家兔
热原质试验比较 内藤试之郎等 (201)
- 三十五、日本和澳大利亚血液过滤代替液和灭菌注射液中内毒素的含量水平
..... H. Tominaga 等 (208)
- 三十六、放射性药品中内毒素的研究—I, 静脉注射和神经鞘内注射对家兔升温的影响
..... L. Merlin 等 (213)
- 三十七、放射性药品中内毒素的研究—II, 比较家兔法和 LAL 法检测内毒素的敏感性
..... J. Bruneau 等 (218)
- 三十八、放射性药品中内毒素的研究—III, LAL 试验在放射性药品上的应用;
与家兔热原试验的符合性 Y, Cohen 等 (227)

三十九、革兰氏阴性感染的脑膜炎儿童患者其临床和化验室指标与脑脊液中 内毒素活性之间的相关性	Terry L Dwelle 等 (232)
四十、内毒素血症:发烧病人内毒素血症的早期预测	Sander J. H. 等 (236)
四十一、心脏手术时遇到的循环内毒素	Lavs W. Andersen 等 (241)
四十二、免疫低下儿童发烧时的内毒素水平	Ada Hass 等 (246)
四十三、鲎试验——腹腔透析的腹膜炎病人革兰氏阴性菌感染的快速敏感的诊断方法…	Michael D. Clagman 等 (250)
四十四、用两种提取法提取大肠杆菌 O ₁₁₁ B ₄ 脂多糖	Ddvid C. Morrison (255)
四十五、国家参考内毒素的制备和性质	J. A. Rudbach 等 (267)

卫生部药典委员会

发送关于细菌内毒素检查法和四种注射液热原 检查项等问题的会议纪要

(95)卫典业字第 040 号

中国药品生物制品检定所、各省、自治区、直辖市、计划单列市药品检验所、总后药检所：

细菌内毒素检查法已收入新版药典(中国药典 1995 年版)附录。为保证该附录的实施,药典委员会与中国药品生物制品检定所于 1995 年 4 月 10 日联合召开会议,邀请有关领导单位参加,共同讨论执行细菌内毒素检查法中的有关问题。现将会议纪要(详见附件)转发你单位,并通知有关单位做好准备工作。

附件:如文

卫生部药典委员会
一九九五年四月十八日

抄:卫生部药政局、国家医药管理局质量司、中国医药工业公司质量处

附件

关于细菌内毒素检查法和四种注射液热原检查项等问题的会议纪要

1994 年 11 月召开的卫生部第六届药典委员会常务委员(扩大)会议决定将细菌内毒素检查法收入中国药典 1995 年版附录,同时将其品种即灭菌注射用水、注射用水、氯化钠注射液及 5%和 10%葡萄糖注射液的热原检查项修订为细菌内毒素检查项。为保证中国药典 1995 年版上述附录和品种增修订标准顺利执行,药典委员会与中国药品生物制品检定所于 4 月 10 日联合召开会议,邀请卫生部药政局、国家医药管理局及中国医药工业公司有关领导同志和中国药品生物制品检定所有关室主任参加,对上述标准中存在的问题进行讨论,商定如下:

一、将中国药品生物制品检定所于 1995 年 2 月提出的细菌内毒素检查法(修订稿)收入中国药典 1995 年版附录。

二、将中国药典 1995 年版品种即灭菌注射用水、注射用水及氯化钠注射液的热原检查项修订为细菌内毒素检查项。同时根据各地考核数据及有关起草单位的建议,将其细菌内毒素限量由原“1EU/ml”修订为“0.5EU/ml”。

三、中国药典 1995 年版品种葡萄糖注射液有五种规格,其中 10ml: 2g, 20ml: 5g 及 20ml: 10g 三种规格尚未做细菌内毒素检查法的考核工作,故该品种热原检查项暂不做修订。待做完工作后研定。

四、自中国药典 1995 年版执行之日起,中国药典 1990 年版第二增补本细菌内毒素检查法及原部颁标准[WS₁-363(B-122)-91]细菌内毒素检查法所附四个品种中,灭菌注射用水、注射用水、氯化钠注射液三个品种的标准同时停止使用;5%和 10%葡萄糖注射液细菌内毒素检查限量同时由原“1EU/ml”修订为“0.5EU/ml”,并执行中国药典 1995 年版附录细菌内毒素检查法的有关规定。

五、1995 年 6 月,由卫生部药政局、药典委员会与中国药品生物制品检定所联合召开实施细菌内毒素检查法研讨会议,讨论并落实细菌内毒素检查法的标准化工作及其有关问题。

中华人民共和国药典

(一九九五年版 二部)

附录 XI D 热原检查法

本法系将一定剂量的供试品,静脉注入家兔体内,在规定时间内,观察家兔体温升高的情况,以判定供试品中所含热原的限度是否符合规定。

供试用家兔 供试用的家兔应健康无伤,体重 1.7~3.0kg,雌兔应无孕。预测体温前 7 日即应用同一饲料饲养,在此期间内,体重应不减轻,精神、食欲、排泄等不得有异常现象。未经使用于热原检查的家兔;或供试品判定为符合规定,但组内升温达 0.6℃的家兔;或供试品判定为不符合规定,但其组内家兔平均升温未达 0.8℃,且已休息两周以上的家兔;或三周内未曾使用的家兔,均应在检查供试品前 3~7 日内预测体温,进行挑选。挑选试验的条件与检查供试品时相同,仅不注射药液,每隔 1 小时测量体温 1 次,共测 4 次,4 次体温均在 38.0~39.6℃的范围内,且最高最低体温的差数不超过 0.4℃的家兔,方可供热原检查用。用于热原检查后的家兔,如供试品判定为符合规定,至少应休息 2 日方可供第 2 次检查用。如供试品判定为不符合规定,且其组内家兔平均升温达 0.8℃或更高时,则组内全部家兔不再使用。每一家兔的使用次数,用于一般药品的检查,不应超过 10 次。

试验前的准备 在作热原检查前 1~2 日,供试用家兔应尽可能处于同一温度的环境中,实验室和饲养室的温度相差不得大于 5℃,实验室的温度应在 17~28℃,在试验全部过程中,应注意室温变化不得大于 3℃,应避免噪音干扰。家兔在试验前至少 1 小时开始停止给食并置于适宜的装置中,直至试验完毕。家兔体温应使用精密度为 $\pm 0.1^\circ\text{C}$ 的肛温计,或其他同样精确的测温装置。肛温计插入肛门的深度和时间各兔应相同,深度一般约 6cm,时间不得少于 1 分半钟,每隔 30~60 分钟测量体温 1 次,一般测量 2 次,两次体温之差不得超过 0.2℃,以此两次体温的平均值作为该兔的正常体温。当日使用的家兔,正常体温应在 38.0~39.6℃的范围内,且各兔间正常体温之差不得超过 1℃。

试验用的注射器、针头及一切和供试品溶液接触的器皿,应置烘箱中用 250℃加热 30 分钟或用 180℃加热 2 小时,也可用其他适宜的方法除去热原。

检查法 取适用的家兔 3 只,测定其正常体温后 15 分钟以内,自耳静脉缓缓注入规定剂量并温热至约 38℃的供试品溶液,然后每隔 1 小时按前法测量其体温 1 次,共测 3 次,以 3 次体温中最高的一次减去正常体温,即为该兔体温的升高度数。如 3 只家兔中有 1 只体温升高 0.6℃或 0.6℃以上,或 3 只家兔体温升高均低于 0.6℃,但升高的总数达 1.4℃或 1.4℃以上,应另取 5 只家兔复试,检查方法同上。

结果判断 在初试 3 只家兔中,体温升高均低于 0.6℃,并且 3 只家兔体温升高总数低于 1.4℃;或在复试的 5 只家兔中,体温升高 0.6℃或 0.6℃以上的兔数仅有 1 只,并且

初试、复试合并 8 只家兔的体温升高总数为 3.5°C 或 3.5°C 以下,均认为供试品的热原检查符合规定。

在初试 3 只家兔中,体温升高 0.6°C 或 0.6°C 以上的兔数超过 1 只;或在复试的 5 只家兔中,体温升高 0.6°C 或 0.6°C 以上的兔数超过 1 只;或在初试、复试合并 8 只家兔的体温升高总数超过 3.5°C ,均认为供试品的热原检查不符合规定。

中华人民共和国药典

(一九九五年版 二部)

附录 XI E 细菌内毒素检查法

本法系用鲎试剂与细菌内毒素产生凝集反应的机理,以判断供试品中细菌内毒素的限量是否符合规定的一种方法。内毒素量用内毒素单位(EU)表示。

细菌内毒素国家标准品系自大肠杆菌提取精制得到的内毒素。以细菌内毒素国际标准品为基准,经过协作标定,使其与国际标准品单位含义一致。细菌内毒素国家标准品用于标定细菌内毒素工作标准品和标定、仲裁鲎试剂灵敏度。

细菌内毒素工作标准品系以细菌内毒素国家标准品为基准进行标定,确定其重量的相当效价。每1ng工作标准品效价应不小于2EU,不大于50EU,并具备均一性和稳定性的实验数据。细菌内毒素工作标准品用于鲎试剂灵敏度测定及试验中的阳性对照。

试验准备 试验所用器皿,需经处理,除去可能存在的外源性内毒素,常用的方法是250℃或180℃干烤适当的时间,也可用其他适宜的方法。试验操作过程应防止微生物的污染。

鲎试剂灵敏度复核 根据鲎试剂灵敏度的标示值(λ_b),将细菌内毒素国家标准品或工作标准品用细菌内毒素检查用水^①溶解,在旋涡混合器上混合15分钟,然后制备成合适的2倍稀释浓度,即 $2\lambda_b$ 、 λ_b 、 $0.5\lambda_b$ 和 $0.25\lambda_b$ 备用,每稀释一步均应在旋涡混合器上混合30秒钟,按“检查法”项下试验,每一稀释液平行做4管,如最大浓度4管均为阳性,最低浓度4管均为阴性,按下式计算鲎试剂灵敏度测定值(λ_c)。

$$\lambda_c = \log^{-1} \frac{\sum X}{4}$$

X为反应终点内毒素浓度的对数值。

当 λ_c 在 $0.5 \sim 2.0\lambda_b$ (包括 $0.5\lambda_b$ 和 $2.0\lambda_b$)时,方可用于细菌内毒素检查并以 λ_b 为该批鲎试剂的灵敏度。每批新的鲎试剂在用于试验前都要进行灵敏度的复核。

供试品干扰试验 按“鲎试剂灵敏度复核”项下试验,用供试品的最大有效稀释液将细菌内毒素国家标准品或工作标准品制成 $2.0\lambda_b$ 、 $0.5\lambda_b$ 、 $0.25\lambda_b$ 浓度稀释液。供试品的最大有效稀释倍数(D)按下式计算:

$$D = L / \lambda_b$$

L为供试品的细菌内毒素限值,EU/ml。

如果有供试品和无供试品测得的鲎试剂灵敏度(λ_c)在 $0.5 \sim 2.0\lambda_b$ (包括 $0.5\lambda_b$ 和 $2.0\lambda_b$)时,则认为供试品在该浓度下不干扰试验,否则需进行适当处理后重复本试验。使用更灵敏的鲎试剂,对供试品进行更大倍数稀释,是排除干扰因素的简单有效的方法。

^① 细菌内毒素检查用水系指与使用批号鲎试剂4小时不产生凝集反应的注射用水。

检查法 取装有 0.1ml 鲎试剂溶液的 10×75mm 试管(或 0.1ml/支规格的鲎试剂原安瓿)4 支,其中 2 支加入 0.1ml 供试品作为供试品管,1 支加入 2λ_b 内毒素工作标准品溶液 0.1ml 作为阳性对照管,1 支加入细菌内毒素检查用水^①0.1ml 作为阴性对照管。将试管中溶液轻轻混匀后,封闭管口,垂直放入 37±1℃ 水浴中,保温 60±2 分钟。保温和拿取试管过程应避免受到振动造成假阴性结果。

结果判断 将试管从水浴中轻轻取出缓缓倒转 180°时,管内凝胶不变形,不从管壁滑脱者为阳性,记录为(+);凝胶不能保持完整并从管壁滑脱者为阴性,记录为(-)。供试品两管均为(-),应认为符合规定;如两管均为(+),应认为不符合规定;如 2 管中 1 管为(+),1 管为(-),按上述方法另取 4 支供试品管复试,4 管中有 1 管为(+),即认为不符合规定。阳性对照为(-)或阴性对照为(+),试验无效。

中华人民共和国卫生部 国家标准(药典、部颁)颁布件

(91)卫药标字 03 号

名 称	细 菌 内 毒 素 检 查 法
实施规定	自实施日起正式执行。卫生部(88)卫药标字 04 号文颁布的细菌内毒素检查法停止试行。
实施日期	1991 年 9 月 1 日
附 件	细菌内毒素检查法部标准
标准提出单位	中国药品生物制品检定所
标准审定单位	卫生部药典委员会
备 注	细菌内毒素检查法仅可做为灭菌注射用水、注射用水、氯化钠注射液、5%和 10%葡萄糖注射液热原检查初试方法。厂家也可按 90 版药典热原方法进行检查。
主送单位	各省、自治区、直辖市卫生厅(局)
抄送单位	各省、自治区、直辖市、经济计划单列市药品检验所,国家医药管理局及所属公司,总后卫生部及药检所、本部有关直属单位

中华人民共和国卫生部

一九九一年七月一日

中华人民共和国卫生部

WS₁-363(B-122)-91

部 标 准

细菌内毒素检查法

本法系利用鲎试剂与细菌内毒素产生凝集反应的机理,以判断供试品中细菌内毒素的限量是否符合规定的一种方法。

细菌内毒素标准品系自大肠杆菌提取精制得到的内毒素。以细菌内毒素国际标准品为基准物,经过协作标定,使标准品单位与国际标准品单位含义一致。用于标定细菌内毒素工作标准品和仲裁鲎试剂灵敏度。

细菌内毒素工作标准品系以细菌内毒素标准品为基准物进行标定,确定其重量的相当效价。每1ng工作标准品效价应不小于2EU,不大于50EU,并具备均一性和稳定性的实验数据。效价测定方法如下:每批工作标准品至少取4支样品,使用同一批号鲎试剂、同1支标准品。每支工作标准品按重量、标准品按单位,分别用内毒素检查用水稀释制备一系列2倍稀释度的内毒素溶液,与鲎试剂反应,当4支工作标准品的反应终点的对数平均值的标准差(S)小于0.365时,计算4支工作标准品的反应终点的几何平均值(以ng/ml表示)及标准品的反应终点值(以EU/ml表示),按下式计算:

$$\text{工作标准品的效价} = \frac{\text{标准品终点值(EU/ml)}}{\text{工作标准品终点值(ng/ml)}} = \text{EU/ng}$$

〔试验准备〕 本法所用器皿需经处理,除去可能存在的外源性内毒素,常用250℃干烤30分钟或180℃干烤2小时,也可用其它适宜方法。试验操作过程应防止微生物的污染。

试验前需核对使用批号鲎试剂的灵敏度标示值,应符合规定。按装量加入配带的鲎试剂溶剂,溶解后,为鲎试剂溶液,备用。

供试品的稀释,使用批号鲎试剂的灵敏度标示值小于供试品的内毒素限量时,按下式计算,用内毒素检查用水将供试品稀释后进行检查。

$$\text{供试品的稀释倍数} = \frac{X}{\lambda}$$

X 供试品的内毒素限量(EU/ml)

λ 使用批号鲎试剂灵敏度标示值(EU/ml)

[检查] 取装有 0.1ml 鲎试剂溶液的 10×75mm 试管(或 0.1ml/支规格的鲎试剂原安瓿)4 支,其中 2 支加入 0.1ml 供试品作为供试品管,1 支加入 2λ 内毒素工作标准品溶液 0.1ml 作为阳性对照管,1 支加入配带的鲎试剂溶剂 0.1ml 作为阴性对照管。将试管轻轻混匀后,封闭管口,垂直放入 37±1℃ 水浴中,保温 60±2 分钟,保温过程和拿取试管要小心。避免因受到振动造成假阴性结果。

结果判断 将试管从水浴中轻轻取出,缓缓倒转 180°时,管内凝胶不变形,不从管壁滑脱者为阳性,记录为(+),凝胶不能保持完整并从管壁滑脱者为阴性,记录为(-),供试品 2 管如为(-),应认为符合规定,不再进行热原检查法(家兔法)试验。如 2 管均为(+),应认为不符合规定。如 2 管中 1 管为(+)1 管为(-),按上述方法另取 4 支供试品管复试,4 管中有 1 管为(+),即认为不符合规定。除正文另有规定外,不符合规定的供试品应再以热原检查法(家兔法)试验,并根据试验的结果判定。

供试品细菌内毒素的限量应符合各品种正文项下的规定。

阳性对照为(-)或阴性对照为(+),试验无效。

※系指其内毒素含量不超过 0.06EU/ml 的注射用水。

附:

灭菌注射用水、注射用水、氯化钠注射液、5%和 10%葡萄糖注射液细菌内毒素检查。

[细菌内毒素]取本品,照细菌内毒素检查法[卫生部部标准 WS₁-363(B-122)-91]试验。

供试品细菌内毒素的限量应不超过 1EU/ml。如超过 1EU/ml,需经热原检查法(家兔法)判定。

中华人民共和国卫生部
卫生部药典委员会

发布
审订

中国药品生物制品检定所 提出

中华人民共和国卫生部 国家标准(药典、部颁)颁布件

(91)卫药标字 04 号

名 称	鲎 试 剂
实 施 规 定	自实施日起正式执行。卫生部(88)卫药标字 04 号文颁布的鲎试剂标准停止试行。
实 施 日 期	1991 年 9 月 1 日
附 件	鲎试剂部标准
标准提出单位	福建省福州东方鲎试剂厂、厦门市鲎试剂厂、广西北海市制药厂
标准审核单位	中国药品生物制品检定所
标准审定单位	卫生部药典委员会
备 注	具有卫生部批准文号的鲎试剂方可用于细菌内毒素检查法
主 送 单 位	各省、自治区、直辖市卫生厅(局)
抄 送 单 位	各省、自治区、直辖市、经济计划单列市药品检验所,国家医药管理局及所属公司,总后卫生部及药检所、本部有关直属单位,有关鲎试剂生产厂

中华人民共和国卫生部
一九九一年七月一日

中华人民共和国卫生部

WS₁-364(B-123)-91

部 标 准

鲎 试 剂

本品为鲎科动物东方鲎(*Tachypleus tridentatus*, Leach)的血液变形细胞溶解物的无菌冷冻干燥品。

本品含能被微量细菌内毒素激活的凝固酶原(Proclotting enzyme),凝固蛋白原(coagulagen),其灵敏度以细菌内毒素标准品或工作标准品测定,应为标示量的 50~200%

[性状]本品为白色或类白色冻干块或粉末,在水和生理盐水中易溶。

[鉴别](1)取本品按装量加水溶解后,加茛三酮试液(中国药典 1990 年版二部附录 162 页)0.25ml,加热煮沸 1~2 分钟,显蓝色或蓝紫色。

(2)取本品按装量加水溶解后,再加水适当稀释,照分光光度法(中国药典 1990 年版二部附录 24 页)测定,在 $270 \pm 1\text{nm}$ 的波长处有单一吸收峰。

(3)取本品按装量加入内毒素检查用水溶解后,吸取 0.1ml,加入 0.1ml 细菌内毒素工作标准或标准品 50EU,混匀后,于 37°C 水浴中放置 1 小时有凝胶形成。

[检查]干燥失重,取本品约 0.1g,在 60°C 减压干燥至恒重,减失重量不得过 5%(中国药典 1990 年版二部附录 55 页)。

自身凝集 取本品 4 支,按装量加入配带的鲎试剂溶剂,溶解后,分别从每支取 0.1ml,再分别加入配带的鲎试剂溶剂 0.1ml,混匀后,于 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 水浴中放置 4 小时,不得形成凝胶,若有 2 管以上形成凝胶,判为不合格,若仅有 1 管形成凝胶,照同样方法,另取 8 支重复检查,8 支中均不得形成凝胶。

缓冲能力 任意取 5%、10%葡萄糖注射液、氯化钠注射液、灭菌注射用水或注射用水适量、加稀盐酸调节 PH 使供试品溶液 PH 值为 2.90~3.00,取此溶液适量与等量鲎试剂溶液混匀,重复测定,PH 值应为 6.00~8.00。

[灵敏度测定] 预测(1)取细菌内毒素工作标准品 1 支,按说明书溶解并稀释成 1→8 等比系列稀释液。

(2)取同一批鲎试剂若干支,分别按标示量加入配带的鲎试剂溶剂制成鲎试剂溶液。取 $10 \times 75\text{mm}$ 试管若干支,分别加入 0.1ml 鲎试剂溶液,加入内毒素稀释液 0.1ml,每一稀释液最少作 2 管。同时作 2 管阴性对照。轻轻振动上述试管混匀内容物,封闭管口,置 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 水浴中,保温 60 ± 2 分钟,观察结果,确定本批鲎试剂灵敏度范围,两管阴性对照不得出现阳性结果。

测定 根据预测得到的灵敏度范围,将细菌内毒素工作标准品 1→2 等比稀释,选择能出现阳性和阴性结果的 4 个连续稀释液,每一稀释液作 4 管,且其最高浓度的 4 管应均为阳性,最低浓度的 4 管应均为阴性,同上述操作,记录反应结果,计算标准差(S)。

$$S = \sqrt{\frac{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}}{n-1}}$$

X 为 4 组反应终点的对数值, n 为 4

当 $S < 0.365$ 时,按下式计算本批鲎试剂灵敏度(λ)

$$\lambda = \log^{-1} \left(\frac{\sum X}{n} \right)$$

当 $S > 0.365$ 时,测定无效,应检查出现差异的原因,并重新测定。

[用途]用于细菌内毒素检查

[规格](1) 0.1ml

(2) 0.5ml

[贮藏]遮光,在冷处保存。有效期暂定一年。

※系指其内毒素含量不超过 0.06EU/ml 的注射用水。

中华人民共和国卫生部	发布	中国药品生物制品检定所	审核
卫生部药典委员会	审订	福建省福州东方鲨试剂厂	
		厦门市鲨试剂厂	提出
		广西北海市制药厂	

中国药典“细菌内毒素检查法”培训班文件

细菌内毒素检查法准则

中国药品生物制品检定所

1、前言

本准则的目的是指导检验者正确地进行供试品中细菌内毒素检查。

从海洋动物鲎(Limulus 或 Tachyplus)血细胞中提取的溶解物冻干品,在本检查法中称鲎试剂,在规定的条件下,鲎试剂与细菌内毒素产生凝集反应,以判断供试品中含内毒素的量是否符合规定。

来源于革兰氏阴性微生物的内毒素,在绝大多数情况下是供试品污染热原引起发热、休克和死亡的重要原因。内毒素具有脂多糖的化学结构。通常被证实的一个结论是,供试品中没有内毒素意味着没有热原。

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正文中要求的热原检查,检验者必须进行证实是否存在干扰因素的试验。

进行细菌内毒素检查,必须使用具有国家卫生部批准文号的鲎试剂。

2、方法

细菌内毒素检查作为一种限度试验,在药典中只采用凝胶法判断供试品合格或不合格,因为凝胶法是经典的,其重复性和准确性能满足要求,更重要的原因是目前内毒素国际标准品仅作为凝胶法测定用。使用定量的方法(产色基质法或动态浊度法)见本原则的最后一节。

3、标准物质和参考物质

标准物质 用于本检查法的标准物质是细菌内毒素国家标准品,它是以 WHO 分发的细菌内毒素国际标准品为基准物,经过国内协作标定,确定其效价,以国际单位(IU)或内毒素单位(EU)表示。根据 WHO 有关文件,1 IU 相当于 1EU。国家标准品用于标定细菌内毒素工作标准品及标定、复核、仲裁鲎试剂灵敏度。

作为常规检验目的,试验中可使用细菌内毒素工作标准品,其效价以国家标准品标定,使其效价单位与国家标准品含意一致。

国家标准品和工作标准品由卫生部指定中国药品生物制品检定所研制、分发、保管。其质量应符合规定。

参考物质 用于本检查的参考物质是鲎试剂参考品,它是经国内协作标定以国家标准品确定灵敏度的一批特殊规格鲎试剂,用来考察内毒素国家标准品和工作标准品的效价及监督国家标准品和工作标准品的溶解、稀释过程的准确性。

鲎试剂参考品由卫生部指定中国药品生物制品检定所研制、分发、保管。其质量应符合规定。