

黄芪注射液细菌内毒素检查的实验研究

★ 杨群 (江西省九江药检所 九江 332000)

关键词:黄芪注射液;鲎试剂;细菌内毒素

中图分类号:TQ 460.7 文献标识码:B

临床采用黄芪注射液静脉点滴给药,可能引起热原反应。我们对该药进行了细菌内毒素试验考察,以探讨用细菌内毒素检查法代替热原检查法的可行性。结果表明,将黄芪注射液按 1:5 稀释后,用灵敏度为 0.5、0.25 Eu/mL 的鲎试剂进行细菌内毒素检查,可控制其限量。

1 试验材料

1.1 试剂 鲎试剂(TAL):湛江博康海洋生物有限公司,规格 0.25 Eu/mL,批号 0507230;规格 0.5 Eu/mL,批号 050228。细菌内毒素检查用水(以下简称:检查用水):北海兴龙生物制品有限公司,规格:2 mL/支;批号:030610;内毒素含量 < 0.015 Eu/mL。内毒素工作标准品:湛江安度斯生物有限公司,规格:5 Eu/支;批号:0304071。

1.2 样品 黄芪注射液,黑龙江珍宝岛制药有限公司,批号:20041210,20041113,20040906,规格:每支装 10 mL(相当于原药材 20g),该 3 批样品免法检查热原符合规定。

1.3 仪器 电热恒温水箱,北京西城区医疗器械厂;旋涡混合器,上海亚荣生化仪器厂。

2 方法与结果

2.1 鲎试剂标示灵敏度复核 由江西省药品检验所复核,符合规定。

2.2 黄芪注射液细菌内毒素限值的确定 依据公

式 $L = K/M$, L 为细菌内毒素的限值, K 为我国细菌内毒素标准品的致热阈,以静脉途径给药时, $K = 5$ Eu/ml,本品热原检查剂量 M 为 1.6 mL/kg。

$$L = K/M = \frac{5 \text{ Eu} \cdot \text{mL}^{-1}}{1.6 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}} = 3.125 \text{ Eu/kg}$$

2.4 黄芪注射液最大有效稀释倍数(MVD)的计算 依据公式 $MVD = LC/\lambda$ 计算。 L 为细菌内毒素限值, c 为供试品溶液浓度, L 以 Eu/mL 表示时, C 为 1.0 mL/mL。

当鲎试剂 $\lambda = 0.5$ Eu/mL 时,

$$MVD = LC/\lambda = \frac{3.125 \text{ Eu} \cdot \text{kg}^{-1} \times 1.0 \text{ mL} \cdot \text{mL}}{0.5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}} = 6 \text{ 倍}$$

当鲎试剂 $\lambda = 0.25$ Eu/mL 时,

$$MVD = LC/\lambda = \frac{3.125 \text{ Eu} \cdot \text{kg}^{-1} \times 1.0 \text{ mL} \cdot \text{mL}}{0.25 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}} = 12 \text{ 倍}$$

2.5 样品对鲎试剂的干扰试验 采用二倍稀释法,依次用原液 1:2, 1:5 的供试品稀释液将同一支细菌内毒素工作标准品稀释成 1.0, 0.5, 0.25, 0.125 Eu/mL 的溶液,取上述每一浓度溶液 0.1 mL,分别加入 $\lambda = 0.5$ Eu/mL 的 0.1 mL 鲎试剂,每一浓度平行做 4 管,37℃ 保温 60 分钟,同时用检查用水将细菌内毒素工作标准品同上法稀释,与鲎试剂反应,结果见表 1。

表 1 样品稀释干扰实验

内毒素系列 /Eu·mL ⁻¹	TAL /Eu·mL ⁻¹	内毒素标准品	原液			1:2 的稀释液			1:5 的稀释液		
			sample1	sample2	sample3	sample1	sample2	sample3	sample1	sample2	sample3
1.0	0.5	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
0.5	0.5	++++	----	----	----	----	----	----	++++	++++	++++
0.25	0.5	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
0.125	0.5	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
NC		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

藿黄散洗剂抗皮肤癣菌实验研究

★ 徐洪波 (江西中医学院微生物学教研室 南昌 330006)

★ 喻文球 (江西中医学院附属中医院 南昌 330006)

关键词:藿黄散洗剂;皮肤癣菌;抗真菌;实验研究

中图分类号:R 285.5 文献标识码:B

藿黄散洗剂是江西省中医院喻文球主任医师在应用中医药治疗皮肤癣病的临床经验基础上,根据中医学辨证原则和现代药理学研究成果开发出来的一种中药复方洗剂,该方剂主要由藿香、黄精、苦参、茵陈、枯矾等中药组成,经临床应用,确有疗效。我们对藿黄散洗剂的抗真菌作用进行了体外及体内实验室研究,为藿黄散洗剂的临床使用打下了一定的理论基础。现将实验方法及结果报告如下:

1 实验材料

1.1 试验药品

将藿香、黄精、苦参、茵陈、枯矾等各 30 g 加水浸泡 20 分钟,然后煮沸 30 分钟,滤出煎液,药渣再

加水煎煮过滤,两次滤出液混合加热浓缩,制成浓度为 1 g/mL 的藿黄散洗剂。

1.2 对照药品

复方土槿皮酊剂(批号:050905,上海信仁中药厂生产)。

1.3 试验菌株

絮状表皮癣菌、犬小孢子菌、须癣毛癣菌和红色毛癣菌,均购自中国医学科学院南京皮肤病研究所。

1.4 试验动物

豚鼠,体重(320±10) g,由江西医学院动物实验中心提供。

1.5 仪器

由表 1 结果可见,黄芪注射液在几种稀释度下,对鲎试剂无抑制作用。稀释 1:5 时,由表 2 计算 E_s 及样品 E_t 的值为: $E_s = \lg^{-1}(\sum X_s/4) = 0.5$

$$\text{样 1: } E_t = \lg^{-1}(\sum X_t/4) = 0.5$$

$$\text{样 2: } E_t = \lg^{-1}(\sum X_t/4) = 0.5$$

$$\text{样 3: } E_t = \lg^{-1}(\sum X_t/4) = 0.5$$

将样品稀释为 1:11 的浓度,改用灵敏度为 $\lambda = 0.25$ Eu/mL 的鲎试剂,同法进行干扰试验,结果见表 2。

表 2 样品稀释干扰实验

内毒素系列 /Eu·mL ⁻¹	TAL /Eu·mL ⁻¹	内毒素标准品 /Eu·mL ⁻¹	样品 1:11 的稀释液		
			sample1	sample2	sample3
0.5	0.25	++++	++++	++++	++++
0.25	0.25	++++	++++	++++	++++
0.125	0.25	----	----	----	----
0.0625	0.25	----	----	----	----
NC		--	--	--	--

$$E_s \text{ 样品 } E_t \text{ 的值为: } E_s = \lg^{-1}(\sum X_s/4) = 0.25$$

$$\text{样 1: } E_t = \lg^{-1}(\sum X_t/4) = 0.25$$

$$\text{样 2: } E_t = \lg^{-1}(\sum X_t/4) = 0.25$$

$$\text{样 3: } E_t = \lg^{-1}(\sum X_t/4) = 0.25$$

式中的 $E_s E_t$ 分别为细菌内毒素用水和样品稀释液制成的内毒素溶液反应终点的对数值。实验得出 $E_s \in [0.5\lambda, 2.0\lambda]$, 3 个样品的 $E_t \in [0.5E_s, 2.0E_s]$, 表明样品在的稀释度下对鲎试剂无干扰作用, 故在此稀释度下可用的鲎试剂作细菌内毒素检查。

3 讨论

黄芪注射液属中药制剂,用家兔法检查热原,操作繁琐,费工费时,且影响因素多,鲎试剂法具有灵敏、快速、操作简便、重现性强等优点,作为确定该药物热原反应的替代方法是可行的。

实验结果表明,黄芪注射液在几种浓度下,均无干扰,而在 1:5 及 1:11 的稀释度下,采用合适的鲎试剂,同药典规定的浓度正好吻合,试验结果与兔法一致,从而可用细菌内毒素检查法替代传统的家兔法。

(收稿日期:2006-06-23)