

# 《鲎试剂应用与进展》

周海韵

湛江安度斯生物有限公司主编 2003年第1期(总第11期)

2003年1月18日

## 新年致词

2002年是中国人的马年。在过去的一年里,中国的经济改革确有“马到功成”之势:经济快速增长,社会安定祥和,人民切实感受到改革开放带来的实惠。我们衷心祝愿广大读者在新到来的羊年里心想事成,喜气洋洋!

2002年对中国的细菌内毒素检查领域来说是平静的一年,没有新的法规颁布,没有标准修订,没有检查品种增加,也没有相关的会议召开。或许管理者们正在谨慎地思考着如何改革,新的方案措施正在平静中孕育着。我们衷心希望在新的一年里中国的细菌内毒素检查应用水平有新的进步与提高!

时下潮流兴“国际接轨”。的确也是,大家生活在同一个地球上,如果没有一些统一的标准或做法,事情便难于比较及交流。如果说中国的细菌内毒素检查尚有未与国际接轨之处,那就是工作标准内毒素(CSE)的效价标示。本期《进展》刊登了一篇对此问题进行讨论的文章,以期引起读者的关注。

《鲎试剂应用与进展》自一九九七年十二月创刊,现今已满五周岁。五年来,在我们编辑部的辛勤努力下,在广大读者的关心和扶持下,《进展》已从幼苗茁壮成长成为根深叶茂的常青之树。我们将继续不懈地努力,使《进展》更好地为广大读者服务。

《鲎试剂应用与进展》编辑部

2003年元月8日

## 目 录

内毒素工作标准品的效价测定及标示方法 .....	2
干热灭菌设备的除热原验证 .....	5
含多种成份的非经肠道药品的 BET 相关计算 .....	8
脂肪乳注射液细菌内毒素检查方法的探讨 .....	10
晴尔(奥扎格雷钠 Ozagrel Sodium Injection) 注射液细菌内毒素检查法的建立 .....	12
举办美洲鲎试剂(LAL)应用研讨班 .....	14
ATI/LKL 动态试管分析仪 .....	15
TAL-40 型试管恒温仪简介 .....	16

## 内毒素工作标准品的效价测定及标示方法

冯聚锦 (湛江安度斯生物有限公司)

内毒素工作标准品(Control Standard Endotoxin, 缩写 CSE) 是进行细菌内毒素检查(BET)时必须使用的参照物质, 其标示效价的可靠性对 BET 的结果有重要的影响。本文介绍目前国内、外 CSE 的使用情况。

### 1. CSE 的效价测定

我国卫生部原部颁标准细菌内毒素检查法中有对 CSE 效价测定方法的阐述, 但自九五年版起中国药典收录的细菌内毒素检查法删去了有关 CSE 效价测定的内容。本文介绍美国 FDA 颁布的《关于使用 LAL 试验作人及兽用非经肠道药品、生物制品及医疗器械终产品内毒素检查的有效性指南》中规定的 CSE 效价测定方法, 供读者参考。

#### 1.1 具体要求

《LAL 试验指南》要求, 一个厂家如果使用 CSE 来代替参考标准内毒素(RSE)作 BET, 此 CSE 必须用 RSE 标化, 测定 CSE 对 RSE 的效价

关系(俗称 RSE/CSE 比率)。该指南还要求, 如果使用一个新批号的鲎试剂或不同灵敏度的鲎试剂, 或更换使用不同厂家的鲎试剂, 以及更换使用不同厂家的 CSE, 都要经 RSE/CSE 比率测定后方可使用。

#### 1.2 凝胶法 BET RSE/CSE 比率的测定方法

以下举例说明 RSE/CSE 比率测定方法。

1.2.1 取某一批号标示灵敏度为  $\lambda$  的鲎试剂, 如  $\lambda = 0.25\text{Eu/ml}$ 。

1.2.2 取 RSE 1 支(瓶), 按使用说明稀释至  $2\lambda$ 、 $\lambda$ 、 $1/2\lambda$ 、 $1/4\lambda$  浓度, 即  $0.5$ 、 $0.25$ 、 $0.125$  及  $0.06\text{Eu/ml}$ 。目前我国使用的 RSE 批号是 Lot 98-1, 标示效价是  $9,000\text{Eu/支}$ 。

1.2.3 取待测 CSE 至少 4 支, 以  $\text{ng}$ (重量)为单位, 按使用要求稀释至与鲎试剂反应能出现阳性及阴性结果的一系列 2 倍稀释度的内毒素溶液, 如  $0.08$ 、 $0.04$ 、 $0.02$ 、 $0.01$ 、 $0.005\text{ng/ml}$  等。

1.2.4 取鲎试剂按 BET 法分别与上述制备的 RSE 及 CSE 系列溶液反应, 每溶液至少平行 4

反应管,记录反应结果,分别计算 RSE 及 CSE 系列反应终点的几何平均平均值。举例如下:

RSE 系列 (Eu/ml)	管号	0.5	0.25	0.125	0.06	NC	反应终点 (Eu/ml)
反应结果	1	+	+	+	-	-	0.125
	2	+	+	-	-	-	0.25
	3	+	+	-	-	-	0.25
	4	+	+	-	-	-	0.25
几何平均值							0.21

CSE 系列 (ng/ml)	管号	0.08	0.04	0.02	0.01	0.005	反应终点 (ng/ml)	
反 应 结 果	第1支	1	+	+	+	-	-	0.02
	2	+	+	+	-	-	-	0.02
	3	+	+	+	-	-	-	0.02
	4	+	+	+	-	-	-	0.02
	第2支	5	+	+	+	+	-	0.01
	6	+	+	+	+	-	-	0.01
	7	+	+	+	+	-	-	0.01
	8	+	+	+	+	-	-	0.01
	第3支	9	+	+	+	-	-	0.02
	10	+	+	+	-	-	-	0.02
	11	+	+	+	-	-	-	0.02
	12	+	+	+	+	-	-	0.01
	第4支	13	+	+	+	+	-	0.01
	14	+	+	+	+	-	-	0.01
	15	+	+	+	-	-	-	0.02
	16	+	+	+	-	-	-	0.02
几何平均值							0.0148	

此批号鲎试剂与 RSE 反应的终点是 0.21Eu/ml,与 CSE 反应的终点是 0.0148ng/ml,则此批 CSE 的 RSE/CSE 比率是:

$$\frac{RSE}{CSE} = \frac{0.21 \text{ Eu/ml}}{0.0148 \text{ ng/ml}} = 14.2 \text{ Eu/ng}$$

假设每支(瓶)CSE 的含量是 10ng/支,那么每支 CSE 的效价就是:

$$14.2 \text{ Eu/ng} \times 10 \text{ ng/支} = 142 \text{ Eu/支}$$

国内目前使用的 CSE 都是直接标示效价的,如 10Eu/支,150Eu/支等等。如果我们要测定这类 CSE 的 RSE/CSE 比率,可以把 CSE 的原标示单位“Eu”改为“eu”,取代上述计算举例中的“ng”,这样就得到 CSE 的 RSE/CSE 比率“Eu/eu”。Eu/eu = 1 或越接近 1,意味着该批 CSE 的标示效价与 RSE 效价越接近。

### 1.3 其它 BET 方法的 RSE/CSE 比率测定

美国 FDA 的《LAL 试验指南》中还提供了终点比色法、终点浊度法以及动态浊度法 BET 的 RSE/CSE 比率测定方法,在此不一一介绍。

### 1.4 对 RSE/CSE 比率测定意义的理解

根据《LAL 试验指南》中对 RSE/CSE 比率测定的要求,我们不难理解到以下差异的存在,即:

(1)同一厂家生产的各批号鲎试剂,即使标示灵敏度相同,对同一批号 CSE 的 RSE/CSE 比率可能存在差异。

(2)同一厂家生产的不同灵敏度的鲎试剂,对同一批号 CSE 的 RSE/CSE 比率可能存在差异。

(3)同一批号鲎试剂对不同批号 CSE 的 RSE/CSE 比率可能存在差异。

(4)某批号的鲎试剂对某批号 CSE,使用不同的 BET 方法测定的 RSE/CSE 比率可能存在差异。

(5)不同厂家生产的鲎试剂对同一批号 CSE 或同一厂家的鲎试剂对不同厂家生产的 CSE 均存在 RSE/CSE 比率差异。

RSE/CSE 比率的差异,意味着同样一支(瓶)CSE,对不同批号的鲎试剂可能有不同的效价。例如,对这批号鲎试剂可能应按 80Eu/支的效价使用,对另一批号的鲎试剂可能应按 110Eu/支的效价使用。

### 2. CSE 的效价标示

导致 RSE/CSE 比率差异的主要原因是鲎试剂生产的工艺差异以及生物反应的复杂性所致,这些影响因素目前尚不能完全地人为控制消除。对于不同批号的鲎试剂存在不同的 RSE/CSE 比率这一客观事实,人们应该如何去标示 CSE 的效价呢?目前有两种标示 CSE 效价的方法,分别阐述如下:

#### 2.1 固定效价标示法

这种标示 CSE 效价的方法是以某一批鲎试剂的 RSE/CSE 比率计算出该批号 CSE 的效价,以此效价作为该批 CSE 的标示效价。例如:某批鲎试剂对某批 CSE 的 RSE/CSE 比率是 8Eu/ng,该批 CSE 的装量是 10ng/支,那么该批 CSE

的效价就是  $8\text{Eu}/\text{ng} \times 10\text{ng}/\text{支} = 80\text{Eu}/\text{支}$ , 以此效价作为该批 CSE 的标示效价, 不管什么批号, 什么灵敏度, 什么厂家甚至什么方法的鲎试剂都按此标示效价来使用。

固定效价标示法使得鲎试剂厂家苦不堪言。一个鲎试剂厂家一年生产的鲎试剂批数少则几十批, 多则几百批, 所有批号的试剂不但要以 RSE 标定灵敏度, 还要符合多个批号的 CSE 的固定效价, 其难度可想而知。由于 RSE/CSE 比率差异的客观存在, 这种“符合”实际上是不可能的!

固定效价标示法看起来似乎是把复杂问题简单化处理了, 但实际上忽视了鲎试剂的 RSE/CSE 比率差异这一客观事实。目前世界上只有中国采用固定效价法来标示 CSE 的效价。

## 2.2 浮动效价标示法

这种方法是对于每批号 CSE, 只标示它的含量, 即纯的脂多糖(LPS)的重量, 如  $10\text{ng}/\text{支}$ ,  $500\text{ng}/\text{瓶}$  等等。当这批号 CSE 确定要对那一批号鲎试剂使用时, 才测定该批号鲎试剂对该批号 CSE 的 RSE/CSE 比率, 然后计算出该批号 CSE 每支(瓶)所含的等同 RSE 的内毒素效价。通常 CSE 效价的测定是由鲎试剂厂家进行的。厂家根据用户的订货要求向用户出具一份测定证书(Certificate of Analysis, 俗称 CoA)。CoA 中写明 CSE 的批号、含量, 鲎试剂的批号、RSE 的批号、RSE/CSE 的比率以及每支(瓶)CSE 的效价等参数。如果用户订购的是凝胶法鲎试剂, 厂家必须提供以凝胶法测定的 CoA 给用户; 如果用户订购的是定量法鲎试剂, 厂家必须提供以定量法测定的 CoA 给用户; 如果用户需要用该批鲎试剂及该批 CSE 既做凝胶法又做定量法, 厂家就必须提供以两种方法测定 CSE 效价的 CoA 给用户。

浮动效价标示法似乎是给鲎试剂厂家增添了不少麻烦, 实际上厂家更接受这种 CSE 的标示方法, 因为它正视了 RSE/CSE 比率差异这一客观事实。浮动效价标示法也使得 BET 实验的

结果更可信。目前世界上除中国外, 所有的 CSE 都以浮动效价法来标示效价。

## 2.3 关于 CSE 的有关探讨

就化学成分而言, RSE 和 CSE 都是人工制备的纯脂多糖(LPS), 虽然它们通常来源于不同的菌株以及不同的制备工艺。在 BET 实验中, CSE 的作用是充当 RSE“替身”的角色, 但这替身所带来的 RSE/CSE 比率差异的效应却是我们所不希望的。如何消除这种效应对 BET 实验的影响, 这是人们一直在努力探讨解决的问题。

在国内, 有方案提出统一生产 CSE, 即各厂家不要制备 CSE, 统一由一个机构来制备 CSE 并分发使用, 认为这样可以减少 CSE 的差异。但事实上这种做法更加剧了 RSE/CSE 比率的差异, 因为全国每年生产近千批次的鲎试剂, 既要 RSE 标定试剂灵敏度, 又要使这些试剂用各批已固定效价的 CSE 来复核灵敏度时符合规定, 何其困难!

在国外, 也有方案提出取消使用 CSE, 所有的 BET 实验都使用 RSE。这个方案固然理想, 但在现今条件下, 有可能生产一批数量足够大的 RSE 供应日常 BET 实验使用吗? 况且, RSE 的高效价(通常是  $10,000\text{Eu}/\text{支}(\text{瓶})$ ) 也不方便日常 BET 实验使用。美国药典推出了一个协调 BET 法(The Harmonized BET), 当中只提使用 RSE, 不提使用 CSE。该法已于 2001 年起在美国药典及欧洲药典实施, 但基于 RSE 的供应问题无法解决, 至今 USP 及 FDA 仍然得接受 CSE 的使用。

实际上不仅存在着 RSE 及 CSE 的差异问题, 不同批次的 RSE 同样存在差异问题。以美国现用的批号为 Lot 13 的国家参考鲎试剂(Reference LAL)为例, 使用美国前一批 RSE(FDA 批号为 Lot EC-5) 标定灵敏度为  $\lambda = 0.09\text{Eu}/\text{ml}$ , 用现用的 RSE(FDA 批号为 Lot EC-6) 标定灵敏度为  $\lambda = 0.06\text{Eu}/\text{ml}$ , 而 Lot EC-5 及 Lot EC-6 的标示效价都是  $10,000\text{Eu}/\text{瓶}$ 。

## 【参考文献】

1. Guideline On Validation Of The Limulus Amebocyte Lysate Test An End - Product Endotoxin Test For Human and Animal Parenteral Drugs, Brugs, Biological Products, nd Medical Devices, U.S. Food and Drug Administration
2. Bacterial Endotoxin Test, the Second Supplement to USP24 - NF19
3. James F. Cooper, Harmonized BET is Effective in 2001 for USP, LAL Times, Vol. 7, NO. 1 March 2000
4. James F. Cooper, SOP Revision For The New BET, LAL Times, Vol. 7, No4 December 2000

## 干热灭菌设备的除热原验证

张永坚 林 干 (湛江安度斯生物有限公司)

**摘要** 本文介绍了应用内毒素指示剂对干热灭菌、除热原设备进行除热原验证的方法,目的是为了使得干热灭菌设备安全可靠并为通过国家 GMP 认证作好有力的保证。

**关键词** 干热灭菌设备 验证 热原 内毒素指示剂 GMP 认证

### 1. 除热原验证

除热原有两种方法,一是分离热原;二是灭活热原。前一种方法包括常用的蒸馏、冲洗、超滤、反渗透、吸附、层析等,这一类方法一般较温和,除了蒸馏和吸附须较高温度外,其它方法一般都在室温或更低的温度下进行。后一类方法则较剧烈,须用酸、碱、氧化剂、烷化剂等处理或者 170℃ 以上的干热。其中干热法因其不会引入其它杂质进入产品中,而且条件易于控制,在现代制药工业中被普遍应用于耐热的玻璃包装材料等的除热原,特别是隧道式灭菌除热原系统使用后更可使生产过程自动化连续进行。在 GMP 的条件下细菌内毒素就是热原<sup>[1]</sup>,干热可以同时除菌除热原,内毒素比细菌芽孢更加耐热,因此以内毒素的衰减来评价灭菌效果也是完全有保证的。

干热除热原的效果与温度直接相关,在不低于 170℃ 条件下,内毒素即可被较大程度地破

坏,短时间的干热一般使用 200℃ 以上的高温,248℃ 8 分钟、220℃ 21 分钟、210℃ 42 分钟即可实现内毒素灭活 1000 倍。干热除热原一般在连续法中(如隧道烘箱)采用的温度等于或高于 300℃,在间歇法中(如干热灭菌柜)采用的温度等于或高于 220℃。不同来源的革兰氏阴性细菌内毒素在干热条件下失活的动力学行为是很相近的,这样就可以方便地建立一个验证用内毒素指示剂。干热灭菌设备作为注射药品生产中的重要设备,在“GMP 规范(1998 年版)附录”中规定必须作设备验证<sup>[2]</sup>。美国药典已经推荐在干热程序中使用内毒素指示剂来评价干热的有效性,同样在我国也提出了把“内毒素挑战性试验”作为干热灭菌、除热原系统除热原效果的验证方法<sup>[3]</sup>。

### 2. 内毒素指示剂

内毒素指示剂一般是从大肠杆菌 O<sub>111</sub>:B<sub>4</sub> 或 O<sub>55</sub>:B<sub>5</sub> 等菌株提取的精制内毒素,经过特殊工艺干燥在玻璃容器(西林瓶或安瓿)中,一般每瓶为 2,000 ~ 10,000 EU,不含任何稳定剂、赋形剂和分散剂。由于玻璃容器内的固体内容物很少,所以看上去象只空瓶。有的单位在作验证时使用一般的细菌内毒素标准品(RSE 或 CSE)作为指示剂,由于其中含有的大量稳定剂

剂和赋形剂等填充物,在干热时会碳化,影响内毒素的回收以及可能会提升指示剂加热的指数,因此不适宜使用普通的细菌内毒素标准品作指示剂。

内毒素指示剂用于验证时应在合理的负载状态下正确地布置于烘箱内。试验设置与“热分布、热穿透试验”一致,负载应包括极端状态下的装载(即最大装载)和极端状态的物品(即最难被热穿透的物品);分布点应注意“热点”和“冷点”区域。隧道式烘箱应在模拟正常生产条件下分别在生产的前、中、后各阶段加入指示剂验证,若在生产过程中采取随机检查的方法,指示剂应与产品有效隔离,且应有明显标识。内毒素指示剂在使用前应除去包装瓶上的标签,开启瓶盖或折断安瓿,再用铝箔封闭管口。

干燥的内毒素指示剂吸附在玻璃瓶壁上,由于没有含内毒素分散剂和稳定剂,指示剂溶解后须较长时间的旋涡混合,即使如此内毒素也难以恢复其全部的填充量。在实际应用中,以指示剂中的内毒素的实测值作为可回收的内毒素量(Re),按以下公式计算回收率,只有在回收率不低于 50% 时才可以使用。

$$\text{回收率} = \frac{\text{可回收的内毒素(Re)}}{\text{标示量}} \times 100\%$$

有报道,使用低浓度吐温溶液溶解指示剂可以显著提高回收率,但应注意干热后检测残余内毒素时也应使用同一吐温溶液溶解指示剂。

通过下面的公式计算内毒素衰减值(Rd),其中 Re 为干热前可回收的内毒素,Rs 为干热后残余的内毒素:

$$\lg Rd = \lg Re - \lg Rs$$

内毒素指示剂中可回收的内毒素(Re)与干热后残余内毒素(Rs)应至少相差三个数量级,干热过程才有效。美国药典及我国的执行标准是  $\lg Rd \geq 3$ ,欧洲药典则要求  $\lg Rd \geq 4$ 。

### 3. 分析准备

取未经干热的内毒素指示剂和经过干热后

的内毒素指示剂,按使用说明书操作,加入一定量的细菌内毒素检查用水溶解,置于旋涡混合器振荡混合。因为精制内毒素的成分是脂多糖,具有亲水性和疏水性的分子极性,在水溶液中分布非常不均匀,极其容易吸附在玻璃瓶壁上,或形成聚团或囊状结构<sup>[4]</sup>,游离的部分很少,需要外加能量使其尽可以分散,因此旋涡振荡对于验证实验非常重要,应严格按说明书操作。不同厂家产品的要求不尽相同,如美国 CR. Endosafe 公司的内毒素指示剂要求加水后旋涡混合 10min,停 30min 后再旋涡混合 20min,然后进行梯度稀释,每往下一梯度稀释前被稀释液都应旋涡混合 30~60sec。湛江安度斯公司的内毒素指示剂要求加水后旋涡混合 15min,然后进行梯度稀释,每往下一梯度稀释前稀释液同样应旋涡混合 30~60sec。待测溶液制备好后应立即进行与鲎试剂的反应,测定未经干热的指示剂的可回收内毒素(Re)和干热后残余内毒素量(Rs)。

## 4. 分析方法

### 4.1 凝胶法限量分析

实验所用的鲎试剂一般由厂家配套供应,灵敏度为 0.125EU/ml 的较为合适。将未经干热的指示剂溶液梯度稀释至 0.25EU/ml 用作产品阳性对照;将干热后的指示剂溶液按未干热前的效价梯度稀释至 125EU/ml 作为样品;按细菌内毒素检查法<sup>[5]</sup>的规定进行检查,产品阳性对照为阳性,样品检查为阴性,表明干热程序已达到 1000 倍的灭活内毒素能力( $\lg Rd > 3$ );若产品阳性对照为阴性,则表明内毒素回收率代于 50%,实验结果无效。若要求更高的灭活能力验证可适当减少已干热的指示剂溶液的稀释倍数,如要求  $\lg Rd > 4$ ,则需将干热后的指示剂溶液按未干热前的效价梯度稀释至 1250EU/ml 浓度作样品检查。

### 4.2 凝胶法半定量分析

将未经干热的内毒素指示剂溶液 10 倍梯

度稀释到接近所选用的鲎试剂灵敏度( $\lambda$ ),再2倍梯度稀释成 $4\lambda$ 、 $2\lambda$ 、 $\lambda$ 、 $0.5\lambda$ 、 $0.25\lambda$ 的系列浓度,然后进行内毒素半定量检查,根据反应终点的稀释倍数计算示经干热内毒素指示剂的可回收内毒素量;将经干热后的内毒素指示剂溶液2倍梯度稀释至能使半定量检查中出现阴性结果的浓度系列,进行内毒素半定量检查,根据反应终点的稀释倍数计算残余内毒素量。

应用举例:内毒素指示剂标示效价为5000EU/瓶,实验所用鲎试剂的灵敏度 $\lambda = 0.125\text{EU/ml}$ ,干热前后的指示剂都使用1.0ml水溶解,并按说明书要求进行旋涡混合。反应结果阳性记为“+”,阴性记为“-”。

A. 未经干热的内毒指示剂系列稀释液反应结果见表1:

表1

稀释倍数(D):	10,000	20,000	40,000	80,000	160,000
内毒素浓度(EU/ml):	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03
反应结果:	+	+	+	-	-

可回收的内毒素:  $Re = \lambda \times D \times 1.0\text{ml} = 0.125 \times 40,000 \times 1.0 = 5,000\text{EU/瓶}$

B. 干热后的残余内毒素指示剂系列稀释液反应结果见表2:

表2

稀释倍数(D):	1	2	4	8
反应结果:	-	-	-	-

残余内毒素:  $Rs = \lambda \times D \times 1.0\text{ml} < 0.125 \times 1 \times 1.0 < 0.125\text{EU/瓶}$

内毒素衰减:  $\lg Rd = \lg Re - \lg Rs > \lg 5,000 - \lg 0.125 > 4.6$ , 该干热程序有效。

### 4.3 定量分析法

动态浊度法或动态显色法都可以使用,标准曲线内毒素梯度作2个数量级即可,一般在5~0.05EU/ml范围,如5.0EU/ml,0.5EU/ml及0.05EU/ml。未经干热内毒素指示剂溶液稀释到0.5EU/ml检测,残余内毒素溶液可直接检测或适当稀释再检测,然后根据结果计算 $Re$ 、 $Rs$ 和 $\lg Rd$ 。例如: $Re = 4,800\text{EU/瓶}$ ,  $Rs < 0.05\text{EU/瓶}$ , 则  $\lg Rd > \lg 4,800 - \lg 0.05 > 5.0$ 。

### 5. 小结

干热灭菌设备是制药企业的重要设备之一,在整个生产过程认证中起到重要作用。分析内毒素指示剂在干热前后的衰减是目前对干热灭菌设备进行除热原验证的最有效方法。在验证过程中应注意使用专用的内毒素指示剂及合适的鲎试剂,严格按照药典细菌内毒素检查法以及产品说明书的要求操作,选择合适的分析方法,这样才能得到科学准确的结果,确保药品生产企业干热灭菌设备的安全可靠。

### 【参考文献】

- 1 Noordwijk JV, et al. European workshop on detection and quantification of pyrogen [M]. Pharmedropa Special Issue, 1989, 1: 1
- 2 国家药品监督管理局. 药品生产质量管理规范(1998年修订) [S]. 1998
- 3 叶瑛瑛主编. 药品生产验证指南 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1996. 131-131.
- 4 Williams KL. Endotoxins [M]. NewYork: Marcel Dekker Inc., 2001. 27-28
- 5 中国药典, 2000年版 二部附录 [S]. 2000: 86

# 含多种成份的非经肠道药品的 BET 相关计算

James F. Cooper

在鲎试验技术上,已经习惯以这样的方式来建立新产品的检测方法:先计算其最大有效稀释倍数(MVD),然后验证该稀释倍数,除此以外似乎别无选择。随着抗干扰鲎试剂的出现以及多种实验方法供选择,管理者可以选择预先确定某种终产品需要的安全系数以及原材料的安全警戒限值。本文是关于生产过程中的内毒素检测的系列专题文章的第三篇,它介绍了预先计划内毒素规格的方案。在解释该方案的过程中,我们提出了一种为复合药品设置限值的方法。

从药典或 FDA 鲎试验指南附录 E 中找到内毒素限值,计算药品的内毒素限值(EL)、最大有效稀释倍数(MVD)和最低有效浓度(MVC)相对比较简单明了。然而,对于原材料、含多种成份的药品或者含多种成份的剂量形式的药品的 BET 相关变量的计算,在官方的文件中没有直接给出。本文对计算不常用剂量形式药品的限值以及设计安全系数的方法提出了一些建议。

当考虑使用鲎试验来检测一种新产品时,有一个问题经常被提出:什么是 MVD?为新产品建立鲎试验方法的一个更直接的方式是选择一个预先设定的安全系数,安全系数的计算是用内毒素限值除以经专门验证的检测方法的灵敏度。请参阅我们 98 年二月份出版的(LAL Times, 5: 1-4, NO.1, 98)中关于结果报告和产品特定灵敏度(PSS)的讨论:

$$PSS = \frac{\text{灵敏度} (\lambda \text{ 以 EU/ml 表示})}{\text{检测浓度} (\text{mg/ml})}$$

## 鲎试验的安全系数

当干扰不成为问题时,通常以安全系数检测终产品,也就是说,选择一个比内毒素限值严格 2 到 10 倍的警戒值,在此建议使用一个简

单方法来计算获得一个更大的安全系数所需要的检测浓度或者稀释倍数。获得更高的检测灵敏度所需的检测浓度或者稀释倍数。获得更高的检测灵敏度所需的检测浓度(TC)或者检测稀释倍数(TD),定义为警戒限值(AL),可通过重新排列 PSS 公式来计算,如下所示,对公式的选择要看内毒素限值是量(EU/mg)还是以体积来(EU/ml)表示:

$$\text{用重量或单位表示: } TC = \frac{\lambda}{AL} \quad \text{或用稀}$$

$$\text{释倍数表示: } TD = \frac{AL}{\lambda}$$

## 成分单一的非经肠道药品

运用这种方法来检测成分单一的药品,例如某种抗生素,它在浓度为 25mg/ml 时的内毒素限值是 0.2EU/mg,将灵敏度提高 4 倍后,也就是在四分之一内毒素限值的情况下进行试验,警戒限值变成 0.05EU/mg,如果使用的鲎试剂灵敏度为 0.125EU/ml,用以重量为基础的公式我们能够确定以警戒限值(EL/4)检测时所需的检测浓度,TC 等于  $\lambda$  除以警戒限值:

$$TC = \frac{\lambda}{AL} = \frac{0.125 \text{ EU/ml}}{0.05 \text{ EU/mg}} = 2.5 \text{ mg/ml}$$

在这个例子中,可很清楚看到,在灵敏度等于 0.125EU/ml 时,以 1:10 稀释的产品(即从 25mg/ml 稀释到 2.5mg/ml)允许在警戒限值下进行试验。

## 含多种成份的非经肠道药品

对于含有多种成份的药品来说,计算它们的内毒素限值更为复杂,因为需要考虑多个内毒素限值。在附录 E 中有多种药品的内毒素限值,虽然每种剂量形式的氨基酸注射液含有多达 15 种氨基酸,但对于所有的注射用氨基酸有一个统一的内毒素限值为 0.2EU/mg。同样



的, 在总体积为 63 毫升的血袋中的抗凝剂溶液含有多种成分的非经肠道氨基酸 (ACPD), 其内毒素限值被定为 5.56EU/ml, 含有糖类和电解质的大输液 (LVP) 的内毒素限值与通用的 LVP 限值相同, 为 0.5EU/ml。这个例子证明了在那些合成药品中, 依据总剂量体积比依据每种成分来计算内毒素限值要简单得多, 例如, 下面列出的一种含有三种维生素 B 的普通注射用药品, 每一种维生素的内毒素限值都有很大的区别。

成分 (含量: mg/ml) 内毒素限值 (EU/mg)

维生素 B <sub>1</sub>	20	3.5
维生素 B <sub>6</sub>	200	0.4
维生素 B <sub>12</sub>	0.2	400

我们假设标签标明的总剂量是 5ml 针剂的含量, 我们不去计算每种成分的最低有效浓度和最大有效稀释倍数来确定哪一种更为严格, 更简单的方法是以 5ml 的剂量为基础来确定内毒素限值, 如 350EU/5ml, 或 70EU/ml。(通常从 350EU/成人剂量来计算内毒素限值, 比从 5EU/剂量/公斤来计算容易。) 以比内毒素限值灵敏 2 倍或 5 倍的安全系数进行试验也就是分别在 35 或 14EU/ml 的条件下进行检测。使用灵敏度为 0.125EU/ml 的试剂, 用比内毒素限值灵敏 5 倍的警戒值进行检测所需要的稀释倍数可用以体积为基础的公式计算出 TD 来获得:

$$TD = \frac{AL}{\lambda} = \frac{14EU/ml}{0.125EU/ml} = 112$$

为了方便, 在此警戒值下将样品稀释 100 倍进行检测, 含有多种维生素的药品在该稀释倍数下是不存在干扰的。

为每种原材料选定内毒素限值时要求考虑更多的因素, 在上术复合维生素针剂的情况下, 最严格的内毒素限值是将官方公布的限值除以 3 来计算每种达到该限值的成份的内毒素限值, 这是不实际的, 因为达到美国药典要求或更高要求的原材料是很少含有过量的内毒素, 而且对复合药品进行的额外的处理, 比如

蒸汽灭菌, 会进一步减少本身存在的内毒素的含量。在没有干扰的条件下, 一种实用的方法是保留官方公布的内毒素限值作为原材料的限值, 但是设一个 1/2 内毒素限值的处置限值以及一个 1/10 内毒素限值的警戒限值, 要获得维生素 B<sub>6</sub> (EL/10) 的原材料的警戒限值所需要的检测浓度可使用以重量为基础的灵敏度进行计算如下:

$$TC = \frac{\lambda}{AL} = \frac{0.125EU/ml}{0.04EU/mg} = 3.1mg/ml$$

这个计算公式说明了如何通过提高检测浓度来简单地提高产品检测灵敏度 (PSS)。在此重复 98 年二月份出版的 98 时事通讯中所述的注意事通讯中所述的注意事项: 在没有收集历史数据来确定现存的物料是否存在不相容性或低水平的内毒素从而影响该方案的情况下是不应该设置警戒值的。设置过于严格的限值是没有好处的, 这样会限制原料的供应来源或增加原材料的成本, 较大的安全系数可能不适用于本身含有低水平内毒素的天然的或重新合成的产品。如果某种药品实体没有官方公布的限值, 只需使用与终产品相同的内毒素限值, 并用上述方案设置警戒限值。对于赋形剂, 可根据它们在最终配方中所占的比例计算其内毒素限值并按照原材料的相同方案处理。

### 含多种组份的非经肠道药品

对于这种产品通常将活性组分和稀释剂放置在不同间隔中。含有多种组分的药品要求在每种组分之间分割内毒素限值, 这种分割不一定需要等量, 对于含有 500mg 活性成分需要用 10ml 稀释液复溶的小瓶, 可以将这个稀释容器的限值标定为 0.5EU/ml (总共是 5EU), 其余的分配给活性成分: 每 500mg 含 345EU 等于 0.69EU/mg。该方法为活性成份提供一个更高的、更随意的内毒素限值, 允许对产品进行更大的稀释从而解决干扰问题以及更大的安全的低水平内毒素含量的范围。

### 多种剂量的非经肠道药品

内毒素限值是通过一小时内的最大给药剂量来计算的,有些人在计算内毒素限值时可能会用标签上标明的 1.2g 每天的总剂量除以 24 小时,但如果标签上给出的是每天 4 次的剂量,那么所有除以 4 获得的剂量可能为一小时的剂量,或 0.3g 每小时。这样内毒素限值就变成了 1.17EU/mg。应该以内毒素限值的一部分作为设定的警戒限值。如前所述延长缓慢注射的药品又是另一种情况。例如用于心血管

病的药品,在不确定的一段时间内的最大剂量是 0.2mg 每分钟,用一小时的注射剂量来计算内毒素限值是合理的,在这种情况下就是每小时 12mg。

### 总结

这些方案是为计算复合药品、含多种成份的原材料以及多成份剂量形式的内毒素限值和警戒限值而提出的。

(万华译,刘少燕、冯聚锦校)

### 经验交流

## 脂肪乳注射液细菌内毒素检查方法的探讨

万华 (湛江安度斯生物有限公司研发部)

**摘要:** 本文通过凝胶法干扰试验验证了脂肪乳注射液对细菌内毒素检查(BET)的相容性。实验证明,将本品作适当的稀释,如 1:4,用相应灵敏度的鲎试剂作细菌内毒素检查无干扰。

**关键词:** 脂肪乳注射液 细菌内毒素检查 鲎试剂 干扰试验

脂肪乳是一种临床常用的大输液,部颁标准给出其细菌内毒素限值为 0.5EU/ml。本文按中国药典细菌内毒素检查法的规定以及相应要求,试验验证了该样品对细菌内毒素检查的相容性,具体过程如下:

### 1. 实验材料

1.1 供试品(S): 脂肪乳注射液,四川蜀乐药业有限公司,批号: 0204271-1, 10%, 500ml; 批号: 0203062-1, 10%, 500ml; 批号: 0206041-1, 10%, 500ml。

1.2 鲎试剂(TAL): 湛江安度斯生物有限公司,批号为: 0207152, 灵敏度为 0.25EU/ml; 批号为: 0208302, 灵敏度为 0.125EU/ml; 鲎试剂在实验前灵敏度经过复合均为合格。

1.3 细菌内毒素检查用水(W) 湛江安度斯生物有限公司,批号为: 0204170, 50ml/瓶。

1.4 细菌内毒素工作标准品(CSE): 批号 2002-7, 效价: 150EU/支, 中国药品生物制品检定所制备。

1.5 细菌内毒素检查用具一套,按细菌内毒素检查法规定除热原。

### 2. 实验方法与结果:

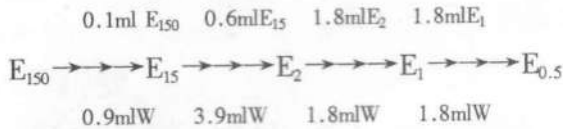
#### 2.1 供试品的干扰初筛试验

2.1.1 供试品的内毒素限值(L): 部颁标准规定脂肪乳注射液的内毒素限值为 0.5 EU/ml。

2.1.2 初筛试验鲎试剂灵敏度( $\lambda$ ): 凝胶法细菌内毒素检查试验的特点,常用的鲎试剂灵敏

度有 0.5—0.03 EU/ml, 为了使试验的过程简单, 这里选择  $\lambda = 0.25$  EU/ml 的鲎试剂做试验。

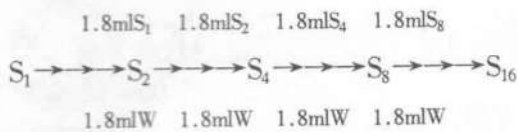
2.1.3 CSE 的稀释: 取 CSE 1 支开启, 加入 1ml 水溶解, 旋涡混合 15 分钟, 然后按照以下方法稀释,  $E_{150}$ ,  $E_{15}$ ,  $E_2$ ,  $E_1$ ,  $E_{0.5}$  (下标数字表示内毒素的浓度), 每一步稀释前都要混合 30—60 秒



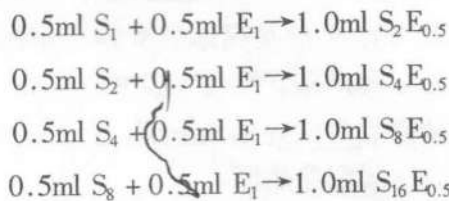
2.1.4 供试品的稀释: 根据最大有效稀释倍数公式  $MVD = L/\lambda$ , 可以得到  $MVD_{0.5} = L/\lambda_{0.5} = 0.5/0.5 = 1$  倍, 由此可得:

MVD	$MVD_{0.5}$	$MVD_{0.25}$	$MVD_{0.125}$	$MVD_{0.06}$	$MVD_{0.03}$
S 的稀释倍数	1	2	4	8	16

用水将供试品按上述要求稀释成  $S_2$ ,  $S_4$ ,  $S_8$ ,  $S_{16}$  (下标数字表示供试品的稀释倍数), 将此系列记作供试品 NPC 系列:



2.1.5 供试品阳性对照 (PPC) 的制备: 用不同浓度的供试品溶液加入等量的  $4\lambda$  的内毒素, 得到含有  $2\lambda$  内毒素的供试品溶液。因为选择的鲎试剂的灵敏度为 0.25EU/ml, 所以将不同浓度的供试品溶液与等量的  $E_1$  混合, 即得到  $S_2E_{0.5}$ ,  $S_4E_{0.5}$ ,  $S_8E_{0.5}$ ,  $S_{16}E_{0.5}$  的一系列 PPC 溶液。如下:



2.1.6 反应: 取批号为 0207152,  $\lambda = 0.25$  EU/ml 的鲎试剂, 加水复溶, 分别与上述 NPC, PPC 系列溶液反应, 每浓度重复 2 管, 另外做 2 管阴性对照 (NC), 2 管阳性对照 (PC)。实验结果如下:

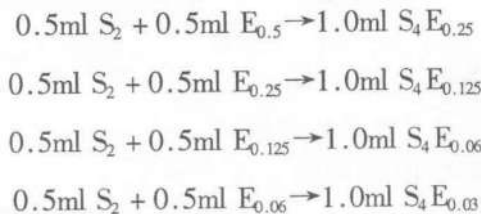
S 的稀释倍数	1	2	4	8	16	NC
对应 MVD	$MVD_{0.5}$	$MVD_{0.25}$	$MVD_{0.125}$	$MVD_{0.06}$	$MVD_{0.03}$	--
NPC 系列	--	--	--	--	--	PC( $E_{0.5}$ )
NPC 系列	--	++	++	++	++	++

## 2.2 供试品干扰试验

2.2.1 干扰试验鲎试剂灵敏度的选择: 为了试验过程的简便及可靠, 一般采用供试品无干扰浓度的最小稀释倍数的下一浓度作检查, 这里选择将供试品稀释 4 倍, 对应选择灵敏度为 0.125EU/ml 的鲎试剂。

2.2.2 CSE 的稀释以及供试品的稀释: 将内毒素按以下过程稀释:  $E_{150}$ ,  $E_{15}$ ,  $E_2$ ,  $E_{0.5}$ ,  $E_{0.25}$ ,  $E_{0.125}$ ,  $E_{0.06}$ ,  $E_{0.03}$ , 方法与前面相同; 供试品按以下过程稀释:  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_4$ , 方法与前面相同。

2.2.3 PPC 系列的制备: 将  $S_2$  与等量的  $E_{0.5}$ ,  $E_{0.25}$ ,  $E_{0.125}$ ,  $E_{0.06}$  的内毒素分别混合得到  $S_4E_{0.25}$ ,  $S_4E_{0.125}$ ,  $S_4E_{0.06}$ ,  $S_4E_{0.03}$  的系列溶液, 即含有  $2\lambda$ ,  $1\lambda$ ,  $0.5\lambda$ ,  $0.25\lambda$  内毒素的供试品 4 倍稀释的溶液。



2.2.4 反应: 取批号为 0208302,  $\lambda = 0.125$  EU/ml 的鲎试剂加水复溶, 分别与内毒素系列及 PPC 系列反应, 每浓度重复 4 管, 2 管阴性对照, 2 管 NPC ( $S_4$ )。实验结果如下:

CSE 系列	$E_{0.25}$	$E_{0.125}$	$E_{0.06}$	$E_{0.03}$	NC	反应终点 (EU/ml)
反应结果	++++	++++	-----	-----	--	$E_0 = 0.125$
PPC 系列	$MVD_{0.25}$	$MVD_{0.125}$	$MVD_{0.06}$	$MVD_{0.03}$	NPC( $S_4$ )	
反应结果	0204271-1	++++	++++	-----	--	$E_1^A = 0.125$
	0203062-1	++++	++++	-----	--	$E_1^B = 0.125$
	0206041-1	++++	++++	-----	--	$E_1^C = 0.125$

2.2.5 日常检查: 在日常检查时, 可以用  $\lambda = 0.125$ EU/ml 的鲎试剂, 将供试品稀释 4 倍按 BET 法检查。

### 3. 讨论

3.1 内毒素检查的干扰初筛试验的目的是为了确定供试品的无干扰浓度范围和可用鲎试剂的灵敏度范围, 以及供试品对鲎试剂干扰程度以及干扰的性质, 初步筛选干扰试验的反应条件, 从而减少干扰验证的盲目性, 避免时间以及资源的浪费。

3.2 干扰初筛试验结果表明, 供试品对 BET

相容性很好, 可以选择将供试品稀释 2—16 倍, 选择灵敏度为 0.25—0.03EU/ml 的鲎试剂做 BET 试验, 没有干扰。

3.3 按照 BET 法规的判断标准, 当  $E_s$  和  $E_t$  都在  $0.5\lambda - 2\lambda$  范围内时, 可认为供试品在该浓度下对 BET 无干扰。在 2.2.4 反应结果中,  $E_s = E_t^A = E_t^B = E_t^C = 0.125\text{EU/ml}$ , 表明供试品在该浓度下对 BET 无干扰。

### 【参考文献】

1. 《临床用药须知》, 卫生部药典委员会编
2. 中国药典, 2000 版, 二部, 附录 86
3. 黄清泉, 夏振民, 药品细菌内毒素检查的实验设计. 中国药学杂志. 1997, 32 (2): 72

## 晴尔 (奥扎格雷钠 Ozagrel Sodium Injection) 注射液细菌内毒素检查法的建立

熊向党 (湛江安度斯生物有限公司研发部)

**摘要** 通过干扰初筛试验和干扰验证试验证明晴尔 (奥扎格雷钠 Ozagrel Sodium Injection) 注射液在 10 倍稀释条件下用  $\lambda$  为 0.5EU/ml 的鲎试剂做细菌内毒素检查无干扰, 可用细菌内毒素检查代替热原检查。

**关键词** 鲎试剂 干扰初筛实验 干扰实验 晴尔

本文通过实验探讨晴尔 (奥扎格雷钠 Ozagrel Sodium Injection) 注射液细菌内毒素检查法的可行性。

### 一、实验材料:

1. 样品 (S): 晴尔, 海南碧凯药业有限公司, 2ml: 40mg, 批号: 020920073, 020919028, 020829019。

### 2. 试剂:

鲎试剂 (TAL): 湛江安度斯生物有限公司产品, 0.1ml/支, 批号: 0207262, 灵敏度: 0.25EU/ml; 批号: 0209042, 灵敏度: 0.5EU/ml。

内毒素工作标准品 (CSE): 中国药品生物制品检定所制备, 批号: 2002-7, 150EU/支。

细菌内毒素检查用水 (W): 湛江安度斯生物有限公司产品, 批号: 0204170, 50ml/瓶。

细菌内毒素检查用具一套, 按药典细菌内毒素检查法规定除热原。

### 二、实验方法与结果:

#### 1. TAL 灵敏度复核:

以上各批 TAL 按药典细菌内毒素检查法的要求复核标示灵敏度, 符合规定。

2. 干扰初筛试验:

①样品内毒素限值 (L) 的确定

参照兔剂量  $M = 1\text{ml/kg}$  计算其限值  $L = K/M = 5\text{EU/ml}$ 。

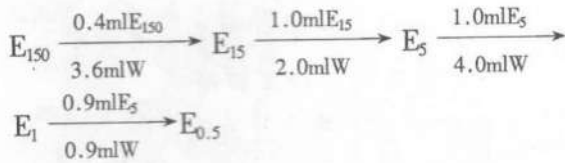
②计算样品的最大有效稀释 (MVD):

根据公式  $MVD = L/\lambda$ , 计算当  $\lambda = 0.5 - 0.03\text{EU/ml}$  时相应的 MVD 值如下:

MVD:	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>
样品稀释倍数:	10	20	40	80	160

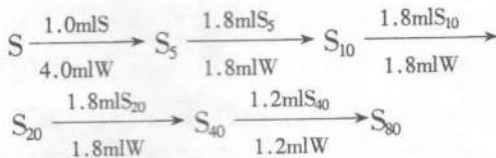
③ 稀释 CSE:

取 CSE 一支, 开启, 加入 1ml W 溶解, 置旋涡混合器上混合 15 分钟, 得到 150EU/ml 的 CSE 溶液 (以 E<sub>150</sub> 表示), 按如下方法稀释至所需系列浓度。



注: 每步稀释前被稀释液应置旋涡混合器旋涡混合 30-60 秒。

④稀释样品 (S): S 的下标表示稀释倍数。



注: 每步稀释应混匀样品溶液。此样品系列溶液记为 NPC 系列。

⑤样品阳性对照 (PPC) 的制备:



注: 每步稀释前应旋涡混合 30-60 秒。此样品系列记为 PPC 系列。

⑥ 选灵敏度  $\lambda$  为 0.25EU/ml 的 TAL, 分别

与 NPC 和 PPC 两个系列溶液反应, 结果如下:

表 1 干扰初筛试验结果

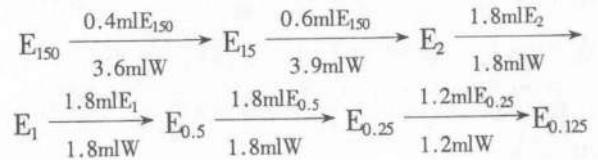
TAL 批号: 0207262, $\lambda = 0.25\text{EU/ml}$				
样品稀释倍数	10	20	40	80
对应 $\lambda$ 及 MVD	MVD <sub>0.5</sub>	MVD <sub>0.25</sub>	MVD <sub>0.125</sub>	MVD <sub>0.06</sub>
反应 NPC	-	-	-	-
结果 NPC	+	+	+	+

⑦实验结果表明, 此样品对 BET 的相容性很好, 可使用灵敏度 0.5-0.06EU/ml 的 TAL 对相应浓度的样品作 BET, 没有干扰。

3. 干扰试验:

取  $\lambda = 0.5\text{EU/ml}$  的 TAL 作干扰实验。

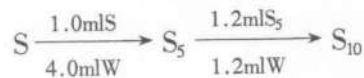
①稀释 CSE:



注: CSE 稀释过程的旋涡混合同干扰初筛试验。

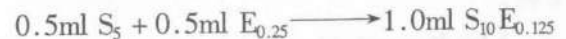
② 稀释样品:

取三批号样品, 分别稀释成 S<sub>5</sub> 及 S<sub>10</sub> (MVD<sub>0.5</sub>) 备用。



③ PPC 系列制备:

按如下方法分别制备每批样品的 PPC 系列溶液。



注: 制备过程的混合同初筛试验。

④ 使用  $\lambda = 0.5\text{EU/ml}$  的 TAL 与 CSE 系列及各批样品的 PPC 系列溶液反应。结果如下:

(下转第 15 页)

## 举办美洲鲎试剂 (LAL) 应用研讨班

2002年11月5-8日,湛江安度斯生物有限公司在上海宇航大厦举办了一期美洲鲎试剂(LAL)应用研讨班。国内三十多家使用LAL的外商投资制药企业以及生产出口药品的内资企业共四十多名学员参加了本期研讨班。

在现代医药工业上,细菌内毒素检查(BET)已被作为注射药品质量控制的一种重要的方法。目前用于BET的试剂分东方鲎试剂(TAL)及美洲鲎试剂(LAL),前者由中国厂家生产,主要供应本国用户;后者由美国厂家生产,用户遍布全世界。在中国,不少外商投资的制药企业使用LAL。此外,一些生产注射药品(包括原料药)出口的制药企业也需要使用LAL。

在美国南卡罗莱纳州的查尔斯顿市,自1978年以来,每年都举办一届鲎试剂专题研讨会(LAL Workshop)。该研讨会由美国非经肠道药物协会主办,由美国在BET领域的著名专家詹姆斯·库珀博士(Dr. James F. Cooper)主持。二十多年来,该研讨会已成为一个著名的学术摇篮,为美国以及世界许多国家的制药企业,研究机构及政府药品管理机构培训了大量的BET技术人员。

为了帮助国内的LAL用户提高BET的应用水平,以及使有关企业的质检人员了解LAL的应用及相关法规,湛江安度斯生物有限公司举办了这期LAL专题研讨班,邀请为美国LAL专题研讨会授课的两名技术专家,来自美国著名的LAL厂商Endosafe公司的John Dubczak和Jill Schultz专程到上海为本次研讨班授课。湛江安度斯公司的刘少燕、冯聚锦作现场翻译。

John Dubczak和Jill Schultz为本期研讨班授课的内容如下:

### 1. 内毒素限量检查技术(凝胶法技术)

- BET的基本参数
- 细菌内毒素的性质
- RSE/CSE的比率及CSE效价测定
- 鲎试验的日常检查、干扰因素及消除方法
- 鲎试验调节剂的使用
- 除热原的方法及除热原验证

### 2. 内毒素定量检查技术

- 定量BET原理
- 定量LAL线性参数
- 内毒素标准的效价与回收的关系
- 回归分析的选择
- 定量LAL的干扰因素及消除方法
- 定量数据分析及解释

### 3. BET的SOP建立及发展

### 4. 美国USP及FDA关于BET的有关管理条例

### 5. LAL在美国医药工业上的应用:产品检查/质量控制/趋势分析

### 6. BET问题释疑

### 7. 一种新的热原检查方法介绍——体外热原检查法(In-Vitro Pyrogen Test, IPT)

Jill Schultz还为研讨班作了凝胶法BET及定量BET的实验演示。本次研讨班期间还展示、演示了Endosafe公司的LAL系列产品,最先进的BET仪器及相关软件。学员们对本次研讨班的效果反应良好,感到收获颇大,希望湛江安度斯公司继续为广大鲎试剂用户提供类似的学术研讨机会。

注:欲需要本次研讨班讲义资料的鲎试剂用户,请来函来电索取。资料数量有限,赠完为止

## ATi/LKL 动态试管分析仪

世界上第一台用于细菌内毒素检查的 LAL-5000 型动态试管分析仪是由美国 ACC 公司 (Associate of Cape Cod, Inc.) 于上世纪七十年代推出, 该仪器的制造商就是英国莱伯金耐特公司 (Lab Kinetics Ltd.)。经过二十多年的发展, 莱伯金耐特公司已成为世界上最大的专业生产细菌内毒素检测仪器的厂商, 其产品遍布于世界各地的医药实验室。

ATi 系列及 LKL 系列动态试管分析仪是莱伯金耐特公司最新一代的产品。ATi / LKL 系列动态试管分析仪充分利用了计算机的能力、现代光电学及现代温控领域的最新技术, 使仪器能够在运行条件下精确控制时间、温度及数据采集等参数, 可获得最大限度的检测精确度, 是目前用于细菌内毒素定量分析的理想工具。

ATi/LKL 系列试管仪与其它厂家的同类产品显著不同之处在于它可提供一系列不同波长检测光源的试管仪给用户选择, 有单波长的、双波长的, 最长达七波长的试管仪, 波长从 300 ~ 700nm 范围可任意选择。如此大幅度的检测光波长选择, 可以对更多种类的样品以及更复杂的样品作细菌内毒素定量测定, 使这一检

查方法不仅可以在药品检查上应用, 更扩展到医学临床检查及其它领域应用。

ATi/LKL 系列产品为不同需要的用户提供了极大的选择空间, 它有 32 孔、64 孔、96 孔甚至 128 孔的试管仪, 而且每种规格的产品都可以波长选择。它的每台仪器都可以通过简单的连接与另一台仪器联机工作, 达到扩充试管孔数的目的。

ATi/LKL 系列动态试管仪有许多先进的功能及优越性能, 有兴趣的读者不妨登录英国莱伯金耐特公司的网页浏览, 它的网址是: [Http://www.labkinetics.com](http://www.labkinetics.com)

一般来说, 国外的高科技产品价格都相当昂贵, 但 ATi/LKL 系列产品的价格只是比国内同类产品略高。如果按其价格性能比计算, 它的价格要远低于国内同类产品价格。

湛江安度斯生物有限公司是英国莱伯金耐特公司产品在中国唯一的代理。湛江安度斯公司为中国的 ATi/LKL 系列动态试管仪用户提供强大的技术支持, 高品质的试剂供应以及良好的售后服务。

(上接第 13 页)

表 2 干扰试验结果

CSE 系列 (EU/ml)	1.0	0.5	0.25	0.125	NC	反应终点
反应结果	++++	++++	----	----	---	$E_0 = 0.5$
PPC 系列 (EU/ml)	$S_{10}E_1$	$S_{10}E_{0.5}$	$S_{10}E_{0.25}$	$S_{10}E_{0.125}$	$S_{10}$	反应终点
反应结果	020920073	++++	++++	----	---	$E_1 = 0.5$
反应结果	020829019	++++	++++	----	---	$E_1 = 0.5$
反应结果	02919028	++++	++++	----	---	$E_1 = 0.5$

4. 日常检查: 可选用  $\lambda$  为 0.5EU/ml 或 0.25EU/ml 的鲎试剂, 样品稀释 10 倍或 20 倍作细菌内毒素检查。

### 三、讨论:

从表 2 结果可以看到,  $E_0 = 0.5\text{EU/ml} = E_1 = \lambda$ , 符合药典细菌内毒素检查法的无干扰条件, 表明晴尔 (奥扎格雷钠 Ozagrel Sodium Injection) 注射液在 10 倍或更大倍稀释条件下对细菌内毒素检查没有干扰作用, 因此建议有关部门考虑以细菌内毒素检查项取代该品种的热原检查项。

## TAL-40 型试管恒温仪简介

《中国药典》2000年版的细菌内毒素检查法要求：反应试管应“垂直放入  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  适宜恒温器中，保温  $60 \pm 2$  分钟”。根据这一要求，湛江安度斯生物有限公司研制开发了一种专用于凝胶法细菌内毒素检查的实验设备——TAL-40 型试管恒温仪。与传统使用的恒温水浴槽比较，TAL-40 型试管恒温仪有如下特点：

1. 仪器的加热块采用高密度铝合金挤压成型，具有热容量大，热阻小，加热均匀的特点，是精密温控的理想材料。

2. 仪器采用最先进的薄膜加热技术及脉冲控温技术，使温度极稳定均匀，温控精度达到  $37 \pm 0.15^\circ\text{C}$ ，试管孔间温差  $\leq 0.1^\circ\text{C}$ 。传统使用的恒温水浴槽的温控精度只有  $\pm 1^\circ\text{C}$ ，且槽内温度场的分布不均匀，靠近发热管位置的水温高，偏离发热管位置的水温低，容易造成鲎试剂反应的差异。

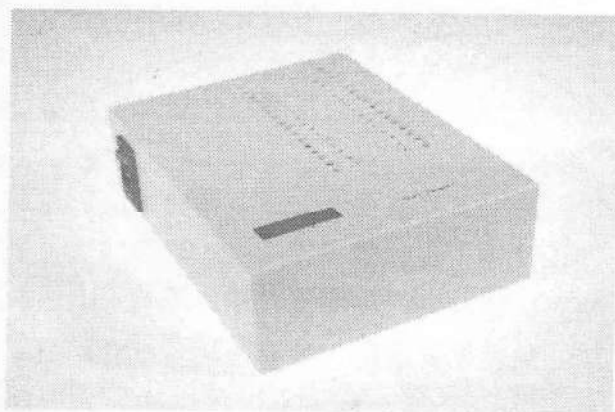
3. 仪器设有五档独立的 60 分钟定时装置，

计时精度达到 60 分钟 + 0 ~ 30 秒，每档定时装置均有独立的蜂鸣提示音。仪器 40 只试管孔可同时使用一档定时装置，也可以分成最多五组先后不同时间使用各自的定时装置。

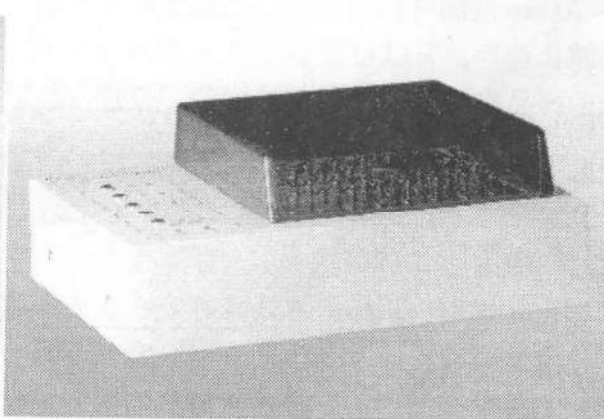
4. 仪器装有独特的遮光防尘盖，使用时试管免封口，使实验操作更方便快捷。如果使用传统的恒温水浴槽，试管必须封口，否则水蒸气或小水珠会进入试管内造成污染。给每支试管一一封口，既麻烦费时，又影响实验精度。

5. 仪器在出厂前已调校好恒定的温度，用户无需调校仪器温度。每次使用前只需提前 15 ~ 20 分钟开启仪器预热。本仪器属节能产品，最大功率 190W，工作状态能耗小于 15W。

6. 每台仪器有 40 只试管孔。A 型仪器适合使用 2ml 安瓿作反应试管；B 型仪器适合使用  $10 \times 75\text{mm}$  标准试管。仪器外型美观，体积小，适合放置于实验室任何位置。



ATi/LKL 动态试管分析仪



TAL-40 型试管恒温仪

湛江安度斯生物有限公司

《鲎试剂应用与进展》编辑组

地址：湛江市人民大道中 38 号 邮 编：524022 电话：(0759) 3380672 3391071 转

网址：http://www.zacb.com 电子信箱：Email: ZACB@pub.zhanjiang.gd.cn