

## 盐酸倍他司汀注射液细菌内毒素方法学研究

郝钢, 张莉芳, 武星, 颜皓, 赵雅婷, 韩峰\*

(内蒙古自治区药品检验研究院, 呼和浩特 010020)

**摘要** **目的:** 研究盐酸倍他司汀注射液细菌内毒素质量控制方法。**方法:** 对5个厂家23批次的盐酸倍他司汀注射液进行细菌内毒素凝胶检查法的方法学研究。**结果:** 本品内毒素限定值为 $3 \text{ EU} \cdot \text{mg}^{-1}$ , 适用《中国药典》2020年版四部通则1143项细菌内毒素检查法检查。**结论:** 盐酸倍他司汀注射液可用细菌内毒素检查法进行质量控制, 其细菌内毒素限值可以定为: 每1 mg 盐酸倍他司汀中含内毒素的量不得超过3.0 EU。

**关键词:** 盐酸倍他司汀注射液; 细菌内毒素; 限值; 干扰试验; 质量控制

中图分类号: R 921.2 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2024)01-0082-08

doi:10.19778/j.chp.2024.01.014

## Methodological investigation on bacterial endotoxin in betahistine hydrochloride injection

HAO Gang, ZHANG Lifang, WU Xing, YAN Hao, ZHAO Yating, HAN Feng\*

(Inner Mongolia Institute of Drug Inspection, Hohhot 010020, China)

**Abstract Objective:** Investigation on the quality control method of bacterial endotoxin in betahistine hydrochloride injection. **Methods:** The method of bacterial endotoxin gel test of 23 batches of betahistine hydrochloride injection from 5 manufacturers was studied. **Results:** The limit value of endotoxin in this product was  $3 \text{ EU} \cdot \text{mg}^{-1}$ , which was suitable for the bacterial endotoxin test of *China Pharmacopoeia* 2020. **Conclusion:** The quality of betahistine hydrochloride injection can be controlled by bacterial endotoxin test, and the limit of bacterial endotoxin can be set as follows: the content of endotoxin in every 1 mg of betahistine hydrochloride should not exceed 3 EU.

**Key words:** betahistine hydrochloride injection; bacterial endotoxin; limits; interference test; quality control

倍他司汀属于组胺类药物, 主要用于梅尼埃病, 亦可用于脑动脉硬化、缺血性脑血管疾病及高血压所致体位性眩晕、耳鸣。盐酸倍他司汀注射液通过静脉滴注或肌肉注射的方式进入人体, 临床静脉用药中, 若药品污染细菌内毒素, 可引起发热、寒战等副反应甚至死亡<sup>[1]</sup>。盐酸倍他司汀注射液是2021年国家样品抽检品种, 本次抽检共125批次, 涉及5家生产企业, 现行标准收载的是热原检查法, 为控制

药品质量, 减少实验动物使用, 依据《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》)2020年版四部通则1143细菌内毒素检查法<sup>[2]</sup>和9251细菌内毒素检查法应用指导原则<sup>[3]</sup>, 并参考文献[4-9], 制定了盐酸倍他司汀注射液细菌内毒素限值, 通过干扰实验和正式实验建立了盐酸倍他司汀注射液细菌内毒素凝胶检查法, 并进行了方法学验证, 为该药品质量标准细菌内毒素检查项提供依据。

第一作者简介: 郝钢, 副主任药师; 研究方向: 药理学和药物安全性评价。Tel: 13404818739; E-mail: 39935313@qq.com

\* 通讯作者简介: 韩峰, 主任药师; 研究方向: 药物安全性评价和医疗器械生物相容性研究; Tel: 13804717039; E-mail: hf9797@

### 1 限值的确定

《中国药典分析检测技术指南》中细菌内毒素检查法 2.2.1 中规定:药品、生物制品的细菌内毒素限值(L)一般按以下公式确定: $L = K/M$ ,其中注射剂类药品  $K = 5 \text{ EU}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ 。通过对盐酸倍他司汀注射液说明书中用法用量和临床使用情况查阅考证,确定盐酸倍他司汀注射液最大注射剂量为每次 30 mg,按 60 kg 成人标准体重,1 h 最快给药速度计算: $M = 30 \text{ mg}/(60 \text{ kg} \cdot 1 \text{ h}) = 0.5 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ ,确定限值  $L = 10 \text{ EU} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。《中国药典分析检测技术指南》细菌内毒素检查法规定:如为特殊用药、联合用药时,可对限值进行调整,可严格至计算限值的 1/2 或 1/3,最终确定盐酸倍他司汀注射液细菌内毒素限值为  $3 \text{ EU} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。

表 2 试剂信息

Tab. 2 Reagent information

名称 (name)	生产企业 (manufacturer)	批号 (batch)	规格 (specs)	灵敏度 (sensitivity)
鲎试剂	湛江博康海洋生物有限公司	2012151	0.1 mL	$0.25 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$
鲎试剂	湛江博康海洋生物有限公司	2011252	0.1 mL	$0.125 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$
鲎试剂	福州新北生化工业有限公司	20121612	0.1 mL	$0.25 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$
鲎试剂	福州新北生化工业有限公司	21020612	0.1 mL	$0.125 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$
细菌内毒素工作标准品	中国食品药品检定研究院	150601-202089	90 EU/支	/
细菌内毒素检查用水	湛江安度斯生物有限公司	1912130	5 mL	/

表 3 盐酸倍他司汀注射液供试品

Tab. 3 Test samples for Betahistine hydrochloride injection

生产企业 (manufacturer)	规格 (specs)	批号 (batch)
河南辅仁怀庆堂制药有限公司	2 mL:10 mg	20052111、2020091611、2020111311、2020111611
亚宝药业集团股份有限公司	2 mL:10 mg	200604、210101、200905、201101
天方药业股份有限公司	2 mL:10 mg	200902002、210202001、210202001、210202002
石家庄四药股份有限公司	2 mL:10 mg	20070241、20102341、20120941、20121841
石家庄四药股份有限公司	5 mL:30 mg	20092041、21030141、21030241、20112341
东北制药集团沈阳第一制药有限公司	2 mL:10 mg	200601-2、201105、201106

### 3 鲎试剂灵敏度复核试验

按照《中国药典》2020 年版四部通则 1143 细菌内毒素检查法,进行鲎试剂灵敏度( $\lambda_c$ )复核。取细菌内毒素工作标准品适量,根据鲎试剂灵敏度的标示值( $\lambda$ ),用细菌内毒素检查用水溶解,置涡旋混合器上混匀 15 min 之后,按《中国药典》2020 年版四部通则 1143 项下方法进行灵敏度复核实验,结果见表 4。

以上 4 批鲎试剂经灵敏度复核试验, $\lambda_c$  均在  $0.5\lambda \sim 2\lambda$  之间,结果均符合《中国药典》2020 年版

### 2 仪器试剂

#### 2.1 仪器设备

仪器设备信息见表 1。

表 1 仪器设备

Tab. 1 Instrument and equipment

名称 (name)	型号 (model)
细菌内毒素测定仪	BET-48G
涡旋混合器	IKA
微量移液器 20 ~ 200 $\mu\text{L}$	Eppendorf
微量移液器 100 ~ 1 000 $\mu\text{L}$	Eppendorf

#### 2.2 试剂与药品

试剂、药品信息分别见表 2 ~ 3。

细菌内毒素凝胶检查法的规定,可用于细菌内毒素检查。

### 4 干扰试验预实验

正式干扰试验前,为了解供试品的干扰情况,首先做干扰试验预实验排除干扰。

#### 4.1 盐酸倍他司汀注射液最大有效稀释倍数 (MVD) 的计算

最大有效稀释倍数是指在试验中供试品溶液被

允许达到稀释的最大倍数(1→MVD),在不超过此稀释倍数的浓度下进行内毒素限值的检测并用以下公式来确定 MVD:

$$MVD = cL/\lambda$$

式中 c 为供试品溶液浓度;L 为供试品的细菌

内毒素限值,为 3 EU · mg<sup>-1</sup>;λ 为凝胶法中鲎试剂的标示灵敏度(EU · mL<sup>-1</sup>)。

目前市售鲎试剂灵敏度 λ 通常在 0.5 ~ 0.03 EU · mL<sup>-1</sup>,不同浓度盐酸倍他司汀注射液对应的最大有效稀释倍数(MVD),见表 5。

表 4 鲎试剂灵敏度复核

Tab. 4 Sensitivity recheck of limulus amebocyte lysate

鲎试剂批号 (TAL batch number)	标示灵敏度 λ (labeling sensitivity λ)/ (EU · mL <sup>-1</sup> )	内毒素浓度 (endotoxin concentration)/(EU · mL <sup>-1</sup> )					NC	灵敏度 λ <sub>C</sub> (sensitivity λ <sub>C</sub> )/ (EU · mL <sup>-1</sup> )
		0.5	0.25	0.125	0.06	0.03		
		2012151	0.25	++++	++++	----		
20121612	0.25	++++	++++	----	----	/	--	0.25
21020612	0.125	/	++++	++++	----	----	--	0.125
2011252	0.125	/	++++	++++	----	----	--	0.125

注:“-”表示阴性;“+”表示阳性,下同。

表 5 不同灵敏度鲎试剂对应不同浓度盐酸倍他司汀注射液的最大有效稀释倍数

Tab. 5 Maximum effective dilution ratio of limulus amebocyte lysate corresponding to different concentrations of Betahistine hydrochloride injection

鲎试剂灵敏度 (sensitivity of TAL)/ (EU · mL <sup>-1</sup> )	不同浓度盐酸倍他司汀注射液的最大有效稀释倍数 (maximum effective dilution ratio of Betahistine hydrochloride injection with different concentrations)	
	5 mg · mL <sup>-1</sup>	6 mg · mL <sup>-1</sup>
	0.5	30
0.25	60	72
0.125	120	144
0.06	240	288
0.03	480	576

#### 4.2 试验操作

取各生产企业的盐酸倍他司汀注射液适量,用细菌内毒素检查用水分别稀释至各有效稀释倍数(见表 5),此系列浓度溶液记为 NPC。

同时制备含有细菌内毒素标准溶液的上述系列浓度溶液,使每一浓度的溶液中均含有 2λ 及 0.25λ 浓度的细菌内毒素,此系列溶液分别记为 PPC<sub>1</sub> 和 PPC<sub>2</sub>。

取灵敏度为 0.25 EU · mL<sup>-1</sup>两个不同企业的鲎试剂,分别与上述 PPC 和 NPC 进行反应,每一浓度重复两管,并设阳性对照(PC)和阴性对照(NC),每一组重复两管,结果见表 6、7。

以上所有企业供试品溶液 NPC 与阴性对照为阴性,阳性对照为阳性,试验有效。由以上干扰预试验结果可见,盐酸倍他司汀注射液对两个厂家的鲎试剂和内毒素的凝聚反应均无干扰抑

制作用。

#### 5 干扰试验

为了最终确认是否存在抑制等干扰因素的影响,参考上述干扰试验预试验结果,进行以下正式干扰试验。分别将 23 批供试品用细菌内毒素检查用水稀释至 60 倍稀释液(规格为 2 mg:10 mL 的供试品)和 72 倍稀释液(规格为 5 mg:30 mL 的供试品),作为供试品溶液即最终干扰试验浓度。分别将细菌内毒素工作标准品配成浓度为 0.5、0.25、0.125、0.06 EU · mL<sup>-1</sup>的含供试品及不含供试品的内毒素溶液,用灵敏度 λ 为 0.25 EU · mL<sup>-1</sup>的两个不同厂家的鲎试剂进行试验,并同时设阴性对照。按《中国药典》2020 年版四部通则 1143 项细菌内毒素检查干扰试验进行实验,结果见表 8、表 9。

表6 盐酸倍他司汀注射液干扰试验预试验

Tab. 6 Pretest of interference test for betahistine hydrochloride injection

供试品(test Sample)规格(specs):2 mL:10 mg		试液名称 (test solution)	供试品稀释倍数(dilution ratio of the test sample)					NC	PC
生产企业(manufacturer)	批号(batch)		30	60	120	240	480		
河南辅仁怀庆堂制药有限公司	2020111611	反应结果	NPC	--	--	--	--	--	++
			PPC <sub>1</sub>	++	++	++	++	++	
			PPC <sub>2</sub>	--	--	--	--	--	
亚宝药业集团股份有限公司	210101	反应结果	NPC	--	--	--	--	--	++
			PPC <sub>1</sub>	++	++	++	++	++	
			PPC <sub>2</sub>	--	--	--	--	--	
天方药业股份有限公司	200902002	反应结果	NPC	--	--	--	--	--	++
			PPC <sub>1</sub>	++	++	++	++	++	
			PPC <sub>2</sub>	--	--	--	--	--	
石家庄四药股份有限公司	20120941	反应结果	NPC	--	--	--	--	--	++
			PPC <sub>1</sub>	++	++	++	++	++	
			PPC <sub>2</sub>	--	--	--	--	--	
东北制药集团沈阳第一制药有限公司	201105	反应结果	NPC	--	--	--	--	--	++
			PPC <sub>1</sub>	++	++	++	++	++	
			PPC <sub>2</sub>	--	--	--	--	--	

  

供试品(test sample)规格(specs):5 mL:30 mg		试液名称 (test solution)	供试品稀释倍数(dilution ratio of the test sample)					NC	PC
生产企业(manufacturer)	批号(batch)		36	72	144	288	576		
石家庄四药股份有限公司	20110541	反应结果	NPC	--	--	--	--	--	++
			PPC <sub>1</sub>	++	++	++	++	++	
			PPC <sub>2</sub>	--	--	--	--	--	

(湛江博康海洋生物有限公司,批号:2012151,λ为0.25 EU·mL<sup>-1</sup>)

表7 盐酸倍他司汀注射液干扰试验预试验

Tab. 7 Pretest of interference test for betahistine hydrochloride injection

供试品(test sample)规格(specs):2 mL:10 mg		试液名称 (test solution)	供试品稀释倍数(dilution ratio of the test sample)					NC	PC
生产企业(manufacturer)	批号(batch)		30	60	120	240	480		
河南辅仁怀庆堂制药有限公司	2020111611	反应结果	NPC	--	--	--	--	--	++
			PPC <sub>1</sub>	++	++	++	++	++	
			PPC <sub>2</sub>	--	--	--	--	--	
亚宝药业集团股份有限公司	210101	反应结果	NPC	--	--	--	--	--	++
			PPC <sub>1</sub>	++	++	++	++	++	
			PPC <sub>2</sub>	--	--	--	--	--	
天方药业股份有限公司	200902002	反应结果	NPC	--	--	--	--	--	++
			PPC <sub>1</sub>	++	++	++	++	++	
			PPC <sub>2</sub>	--	--	--	--	--	
石家庄四药股份有限公司	20120941	反应结果	NPC	--	--	--	--	--	++
			PPC <sub>1</sub>	++	++	++	++	++	
			PPC <sub>2</sub>	--	--	--	--	--	
东北制药集团沈阳第一制药有限公司	201105	反应结果	NPC	--	--	--	--	--	++
			PPC <sub>1</sub>	++	++	++	++	++	
			PPC <sub>2</sub>	--	--	--	--	--	

  

供试品(test sample)规格(specs):5 mL:30 mg		试液名称 (test solution)	供试品稀释倍数(dilution ratio of the test sample)					NC	PC
生产企业(manufacturer)	批号(batch)		36	72	144	288	576		
石家庄四药股份有限公司	20110541	反应结果	NPC	--	--	--	--	--	++
			PPC <sub>1</sub>	++	++	++	++	++	
			PPC <sub>2</sub>	--	--	--	--	--	

(福州新北生化工业有限公司,批号:20121612,λ为0.25 EU·mL<sup>-1</sup>)

表8 盐酸倍他司汀注射液干扰试验

Tab. 8 Interference test for Betahistine hydrochloride injection

企业名称 (manufacturer)	规格 (specs)	供试品 批号(test sample batch)	细菌内毒素浓度 (bacterial endotoxin concentration)/(EU · mL <sup>-1</sup> )				NC	Es/ (EU · mL <sup>-1</sup> )	E <sub>t</sub> / (EU · mL <sup>-1</sup> )
			0.5	0.25	0.125	0.06			
		水溶液(aqueous solution)	++++	++++	----	----	--	0.25	/
河南辅仁怀庆堂 制药有限公司	2 mg;10 mL	20052111	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		2020091611	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		2020111311	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		2020111611	++++	++++	----	----	--	/	0.25
亚宝药业集团 股份有限公司	2 mg;10 mL	200604	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		210101	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		200905	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		201101	++++	++++	----	----	--	/	0.25
天方药业股份 有限公司	2 mg;10 mL	200902002	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		210202001	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		210202001	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		201202002	++++	++++	----	----	--	/	0.25
石家庄四药股份 有限公司	2 mg;10 mL	20070241	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		20102341	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		20120941	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		20121841	++++	++++	----	----	--	/	0.25
东北制药集团沈阳 第一制药有限公司	2 mg;10 mL	200601-1	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		201105	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		201106	++++	++++	----	----	--	/	0.25
石家庄四药股份 有限公司	5 mg;30 mL	20092041	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		21030141	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		20110541	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		20112341	++++	++++	----	----	--	/	0.25

(湛江博康海洋生物有限公司,批号:2012151,λ 为 0.25 EU · mL<sup>-1</sup>)

表9 盐酸倍他司汀注射液干扰试验

Tab. 9 Interference test for Betahistine hydrochloride injection

企业名称 (manufacturer)	规格 (specs)	供试品 批号(test sample batch)	细菌内毒素浓度 (bacterial endotoxin concentration)/(EU · mL <sup>-1</sup> )				NC	Es/ (EU · mL <sup>-1</sup> )	E <sub>t</sub> / (EU · mL <sup>-1</sup> )
			0.5	0.25	0.125	0.06			
		水溶液(aqueous solution)	++++	++++	----	----	--	0.25	/
河南辅仁怀庆堂 制药有限公司	2 mg;10 mL	20052111	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		2020091611	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		2020111311	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		2020111611	++++	++++	----	----	--	/	0.25
亚宝药业集团股 份有限公司	2 mg;10 mL	200604	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		210101	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		200905	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		201101	++++	++++	----	----	--	/	0.25
天方药业股份 有限公司	2 mg;10 mL	200902002	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		210202001	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		210202001	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		201202002	++++	++++	----	----	--	/	0.25

续表 9 (Tab. 9 continued)

企业名称 (manufacturer)	规格 (specs)	供试品 批号 (test sample batch)	细菌内毒素浓度 (bacterial endotoxin concentration)/(EU · mL <sup>-1</sup> )				NC	Es/ (EU · mL <sup>-1</sup> )	E <sub>i</sub> / (EU · mL <sup>-1</sup> )
			0.5	0.25	0.125	0.06			
			石家庄四药股份 有限公司	2 mg:10 mL	20070241	++++			
		20102341	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		20120941	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		20121841	++++	++++	----	----	--	/	0.25
东北制药集团沈阳 第一制药有限公司	2 mg:10 mL	200601-1	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		201105	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		201106	++++	++++	----	----	--	/	0.25
石家庄四药股份 有限公司	5 mg:30 mL	20092041	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		21030141	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		20110541	++++	++++	----	----	--	/	0.25
		20112341	++++	++++	----	----	--	/	0.25

(福州新北生化工业有限公司,批号:20121612,λ为0.25 EU · mL<sup>-1</sup>)

上述干扰试验表明:Es 在 0.5λ ~ 2λ 之间,E<sub>i</sub> 在 0.5 Es ~ 2 Es 之间,23 批供试品对鲎试剂与细菌内毒素的反应均无干扰抑制作用。

### 6 供试品细菌内毒素检查

按《中国药典》2020 年版四部通则 1143 项细菌内毒素检查法,取标示灵敏度为 0.25 EU · mL<sup>-1</sup> 的两个厂家的鲎试剂试剂进行检查,用细菌内毒素检查用水将细菌内毒素工作标准品稀释成

4λ,2λ(阳性对照溶液)浓度的溶液,分别将 23 批供试品用细菌内毒素检查用水稀释至 60 倍稀释液(规格为 2 mg:10 mL 的供试品)和 72 倍稀释液(规格为 5 mg:30 mL 的供试品),同时分别在 30 倍供试品稀释液(规格为 2 mg:10 mL 的供试品)和 36 倍供试品稀释液(规格为 5 mg:30 mL 的供试品)中添加 4λ 的等体积细菌内毒素标准溶液作为供试品阳性对照溶液,并设阳性和阴性对照,结果见表 10、11。

表 10 供试品细菌内毒素检查(批号:2012151,λ为0.25 EU · mL<sup>-1</sup>)

Tab. 10 Bacterial endotoxin test of test samples

企业名称 (manufacturer)	规格 (specs)	供试品批号 (test sample batch)	稀释倍数 (dilution ratio)	NPC	PPC	NC	PC
河南辅仁怀庆堂制药有限公司	2 mg:10 mL	20052111	60	--	++	--	++
		2020091611	60	--	++	--	++
		2020111311	60	--	++	--	++
		2020111611	60	--	++	--	++
亚宝药业集团股份有限公司	2 mg:10 mL	200604	60	--	++	--	++
		210101	60	--	++	--	++
		200905	60	--	++	--	++
		201101	60	--	++	--	++
天方药业股份有限公司	2 mg:10 mL	200902002	60	--	++	--	++
		210202001	60	--	++	--	++
		210202001	60	--	++	--	++
		201202002	60	--	++	--	++
石家庄四药股份有限公司	2 mg:10 mL	20070241	60	--	++	--	++
		20102341	60	--	++	--	++
		20120941	60	--	++	--	++
		20121841	60	--	++	--	++

续表 10 (Tab. 10 continued)

企业名称 (manufacturer)	规格 (specs)	供试品批号 (test sample batch)	稀释倍数 (dilution ratio)	NPC	PPC	NC	PC
河南辅仁怀庆堂制药有限公司	2 mg:10 mL	20052111	60	--	++	--	++
东北制药集团沈阳第一制药有限公司	2 mg:10 mL	200601-1	60	--	++	--	++
		201105	60	--	++	--	++
		201106	60	--	++	--	++
石家庄四药股份有限公司	5 mg:30 mL	20092041	72	--	++	--	++
		21030141	72	--	++	--	++
		20110541	72	--	++	--	++
		20112341	72	--	++	--	++

表 11 供试品细菌内毒素检查(批号:20121612,  $\lambda$  为  $0.25 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ )

Tab. 11 Bacterial endotoxin test of test samples

企业名称 (manufacturer)	规格 (specs)	供试品批号 (test sample batch)	稀释倍数 (dilution ratio)	NPC	PPC	NC	PC
河南辅仁怀庆堂制药有限公司	2 mg:10 mL	20052111	60	--	++	--	++
		2020091611	60	--	++	--	++
		2020111311	60	--	++	--	++
		2020111611	60	--	++	--	++
亚宝药业集团股份有限公司	2 mg:10 mL	200604	60	--	++	--	++
		210101	60	--	++	--	++
		200905	60	--	++	--	++
		201101	60	--	++	--	++
天方药业股份有限公司	2 mg:10 mL	200902002	60	--	++	--	++
		210202001	60	--	++	--	++
		210202001	60	--	++	--	++
		201202002	60	--	++	--	++
石家庄四药股份有限公司	2 mg:10 mL	20070241	60	--	++	--	++
		20102341	60	--	++	--	++
		20120941	60	--	++	--	++
		20121841	60	--	++	--	++
东北制药集团沈阳第一制药有限公司	2 mg:10 mL	200601-1	60	--	++	--	++
		201105	60	--	++	--	++
		201106	60	--	++	--	++
石家庄四药股份有限公司	5 mg:30 mL	20092041	72	--	++	--	++
		20110541	72	--	++	--	++
		20112341	72	--	++	--	++
		21030141	72	--	++	--	++

上述实验表明,23 批供试品经 2 个厂家的鲎试剂(灵敏度为  $0.25 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 检验,结果均符合规定。

## 7 结果

本试验使用 2 个鲎试剂厂家的鲎试剂对 5 个生产企业的 23 批次盐酸倍他司汀注射液进行试验,验

证了不同样品和不同鲎试剂反应的一致性并建立了盐酸倍他司汀注射液细菌内毒素检查法。本试验 23 批次盐酸倍他司汀注射液细菌内毒素检查结果与法标热原检查结果一致。

细菌内毒素检查法具有操作简单、快速省时、实验费用少、重现性好的优点,因此,盐酸倍他司汀注射液可以以细菌内毒素检查法代替热原检查法进行

检验并采用细菌内毒素检查法进行质量控制,其细菌内毒素限值定为:每1 mg 盐酸倍他司汀中含内毒素的量不得超过3 EU。标准制定如下:取本品,依法检查(《中国药典》2020年版四部通则1143),每1 mg 盐酸倍他司汀中含细菌内毒素的量应小于3 EU。

## 8 讨论

目前《中国药典》细菌内毒素检查为鲎试剂法,相较于家兔热原检查法,该方法具有检测速度快,结果精准等优点<sup>[10-13]</sup>。《中国药典》2020年版(四部)通则1143细菌内毒素检查法收录了凝胶法和光度测定法,均可用于样品细菌内毒素检查。

在方法建立时,要特别注意其准确性,需要进行验证试验。由于生产工艺、质量控制、产品批次之间等方面存在一定的差异,不同厂家的鲎试剂灵敏度和抗干扰能力存在不同<sup>[1]</sup>。本研究采用2个不同厂家的鲎试剂进行试验,避免不同鲎试剂质量差异的影响,确保所建立的方法准确、合理。

为提高药品质量标准,保证人体用药安全,本研究中盐酸倍他司汀注射液的细菌内毒素限值定为3EU/mg。根据干扰预试验结果,初步发现盐酸倍他司汀注射液对鲎试剂与细菌内毒素的反应均无干扰抑制作用。正式干扰试验结果,Es在0.5λ~2λ范围之内,Et在0.5Es~2Es范围之内,确认盐酸倍他司汀注射液对鲎试剂与细菌内毒素的反应无干扰抑制作用。综上所述,建立的细菌内毒素检查法可用于盐酸倍他司汀注射液,且本研究中盐酸倍他司汀注射液内毒素限定值为3EU·mg<sup>-1</sup>,适用《中国药典》2020年版四部通则1143项细菌内毒素检查法检查。

## 参考文献

- [1] 于海洲,鲁凯强,于风平,等. 注射用乙酰左卡尼汀细菌内毒素检查方法的建立[J]. 中国药品标准,2022,23(3):322.  
YU HZ, LU KQ, YU FP, *et al.* Establishment of bacterial endotoxins test in acetyl-L-carnitine for injection[J]. Drug Stand China, 2022, 23(3):322.
- [2] 中华人民共和国药典2020年版. 四部[S]. 2020:178.  
ChP 2020. Vol IV[S]. 2020:178.
- [3] 中华人民共和国药典2020年版. 四部[S]. 2020:515.  
ChP 2020. Vol IV[S]. 2020:515.
- [4] 王恺,苏健. 盐酸异丙嗪注射液细菌内毒素检查法可行性研究[J]. 南通大学学报(医学版), 2022, 42(6):592.

- WANG K, SU J. Feasibility study on bacterial endotoxin detection method of promethazine hydrochloride injection[J]. J Nantong Univ(Med Sci), 2022, 42(6):592.
- [5] 张红梅,方芳,李祥胜,等. 甘精胰岛素原料药细菌内毒素检查方法学研究[J]. 中国药业,2022,31(20):72.  
ZHANG HM, FANG F, LI XS, *et al.* Study on bacterial endotoxin detection methodology of insulin glargine API [J]. China Pharm, 2022, 31(20):72.
- [6] 刘枕,马帅,冯宇,等. 3种中药注射剂细菌内毒素检查方法研究[J]. 中国药品标准, 2022, 23(4):430.  
LIU Z, MA S, FENG Y, *et al.* Study on detection methods of bacterial endotoxin in three traditional Chinese medicine injections[J]. Drug Stand China, 2022, 23(4):430.
- [7] 裴宇盛,蔡彤,陈晨,等. 中国药典2020年版细菌内毒素检查法补充方法应用研究[J]. 中国现代应用药学,2022,39(6):822.  
PEI YS, CAI T, CHEN C, *et al.* Application of supplementation methods of bacterial endotoxin detection method in 2020 edition of Chinese Pharmacopoeia [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2022, 39(6):822.
- [8] 孙智培,何硕,胡滔. 注射用卡络磺钠细菌内毒素检测方法研究[J]. 中国药品标准,2020,21(3):223.  
SUN ZP, HE S, HU Y. Research on bacterial endotoxin detection method of sodium carboxymethylcellulose for injection [J]. Drug Stand China, 2020, 21(3):223.
- [9] 陈晨,赵小燕,裴宇盛. 胆固醇的细菌内毒素检查方法研究[J]. 中国现代应用药学,2023,40(1):82.  
CHEN C, ZHAO XY, PEI YS. A study on bacterial endotoxin testing methods for cholesterol [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2023, 40(1):82.
- [10] 何燕,陈炜,罗峰. 盐酸川芎嗪细菌内毒素检查方法学研究[J]. 中国药品标准,2019,20(5):427.  
HE Y, CHEN W, LUO F. Investigation of methodological bacterial endotoxin test of ligustrazine hydrochloride [J]. Drug Stand China, 2019, 20(5):427.
- [11] 张璞. 硼替佐米原料药细菌内毒素检查方法研究[J]. 中国药业, 2021, 30(24):81.  
ZHANG P. Methods for bacterial endotoxin test of bortezomib [J]. China Pharm, 2021, 30(24):81.
- [12] 范治云,刘瑞,赵岩,等. 碘克沙醇注射液细菌内毒素检查法质量标准修订建议[J]. 中国药业,2021,30(22):82.  
FAN ZY, LIU R, ZHAO Y, *et al.* Suggestions on the revision of the quality standard of the bacterial endotoxin test for iodixanol injection[J]. China Pharm, 2021, 30(22):82.
- [13] 刘洋,王瑶,孟长虹,等. 注射用醋酸奥曲肽微球细菌内毒素检查法研究[J]. 中国新药杂志,2021,30(14):1340.  
LIU Y, WANG Y, MENG CH, *et al.* Study on bacterial endotoxin test of octreotide acetate microspheres for injection [J]. Chin J New Drugs, 2021, 30(14):1340.

(收稿日期:2023-04-28)