

藥物食品檢驗局調查研究年報(Ann. Rept. FDB)



大型輸注液內毒素污染之測定

謝榮添 魏秀義 林嘉伯

第 二 組

摘 要

本研究為探討大型輸注液內毒素污染的情形，於七十五年間在台灣地區普遍抽購大型輸注液 549 件，以 LAL 試驗法進行其細菌內毒素檢測，呈陽性者有 9 件，佔 1.64%。其中國產製劑 517 件，呈陽性者有 8 件，佔 1.55%；輸入製劑 32 件呈陽性者有 1 件，佔 3.1%。此 9 件 LAL 試驗呈陽性者經家兔熱原試驗檢驗結果均為陰性。

鍵語：大型輸注液，LAL Test，內毒素。

前 言

引起發燒之熱原物質之來源為細菌、黴菌、病毒等微生物為主，由這些活的或死的微生物或其代謝物進入製劑內，尤以製劑中之水為其最大來源，這些微生物中以革蘭氏陰性桿菌產生之內毒素為其最大原因物質，且佔極大部分。1973 年起 LAL 試驗即被證實為細菌內毒素之靈敏指示劑，由於其被確定之靈敏度，故其在預防因投與或使用受細菌內毒素污染之製劑而發燒，休克甚至死亡，甚具價值。LAL 試驗也廣泛地被認為較家兔熱原試驗更快速，檢體需要量更少之簡易試驗法²⁻¹¹。本研究係針對大型輸注液受細菌性內毒素污染之情形，以 LAL 試驗法進行檢測，呈陽性之輸注液再加以進行家兔熱原試驗，並進行其內毒素污染量之測定。

材料及方法

一、檢體來源：

在台灣地區之醫院診所及藥房(房)價購大型輸注液共計 549 件。

二、LAL 試劑及標準內毒素：

Limulus Amebocyte Lysate (Pyrotell)

1 Test Vial 敏感度為 0.25 Eu/ml。USP Reference Standard Endotoxin 10,000 u/vial。

三、玻璃器材均以 250°C 半小時以上乾熱滅菌除去熱原，稀釋液用市售之無菌無熱原注射用水。

四、方法：

(一) LAL 試驗法：依據 USP XXI P 1167-1168 進行。

1. 吸取 0.2 ml 樣品，陽性對照液，陰性對照液等置於 LAL 試劑管內。

2. 振盪均勻後放在 37°C 恒溫槽靜置一小時。

3. 在正確一小時加溫後，輕輕取出試管，並使試管倒立 180°，若有凝膠附著於試管底部即表示陽性反應。若試管輕斜無粘性倒立即掉落者即表示陰性反應。

(二) 家兔熱原試驗：依據 USP XXI 進行試驗，其注射用量為家兔每公斤體重 10 ml。

大型輸注液內毒素污染之測定

表一 國產大型輸注液LAL試驗分析表

廠名	件數	LAL試驗			
		陰 性		陽 性	
		件 數	%	件 數	%
A	146	144	98.63%	2	1.37%
B	59	53	89.83%	6	10.17%
C	120	120	100.00%	0	0 %
D	74	74	100.00%	0	0 %
E	30	30	100.00%	0	0 %
F	25	25	100.00%	0	0 %
G	21	21	100.00%	0	0 %
H	9	9	100.00%	0	0 %
I	8	8	100.00%	0	0 %
J	8	8	100.00%	0	0 %
K	6	6	100.00%	0	0 %
L	5	5	100.00%	0	0 %
M	2	2	100.00%	0	0 %
N	1	1	100.00%	0	0 %
O	1	1	100.00%	0	0 %
P	1	1	100.00%	0	0 %
Q	1	1	100.00%	0	0 %
合計	517	509	98.45%	8	1.55%

表二、大型輸注液內毒素污染量

品 名	廠別	內毒素含量
生理食鹽水	B	2 Eu/ml
生理食鹽水	B	1 Eu/ml
生理食鹽水	B	0.5 Eu/ml
生理食鹽水	B	2 Eu/ml
葡萄糖注射液	B	1 Eu/ml
林格兒液	B	1 Eu/ml
乳酸林格爾	A	0.5 Eu/ml
乳酸林格爾	A	1 Eu/ml
基樂斯	Y	0.5 Eu/ml

A、B係國內廠。Y係國外廠。

結果與討論

此次共抽購大型輸注液 549 件，檢驗結果 LAL 陽性者共 9 件，其中國產者 8 件，輸入者 1 件。國產大型輸注液 517 件共有製造廠 17

家，呈 LAL 試驗陽性者 8 件，佔 1.55%。呈陽性之製造廠只有二家，其中 B 廠抽驗 59 件呈陽性者有 6 件，佔 10.17%。A 廠抽驗 146 件，呈陽性者有 2 件佔 1.37% (如表一)。8 件中生理食鹽水 4 件，葡萄糖注射液 1 件，林格爾(Ringer's) 1 件均為 B 廠之製品。乳酸林格爾(Lactated Ringer's) 2 件則為 A 廠之製品。綜觀上述 LAL 試驗結果，呈現陽性反應的製品製造廠僅 2 家，且其製品亦只有少數 4 種，推測可能其在製造過程中使用的原料及蒸餾水受到細菌內毒素之污染。輸入大型輸注液抽驗 32 件，呈 LAL 試驗陽性者 1 件，佔 3.1%。

經測定 LAL 試驗為陽性者以二倍連續稀釋法進行其內毒素污染量之測定，其內毒素含量在 2 Eu/ml 者有 2 件。1 Eu/ml 有 4 件，0.5 Eu/ml 者有 3 件 (如表二)。經 LAL 試驗呈陽性之 9 件檢體再進行家兔熱原試驗，其檢驗結果為陰性，可見二者並不完全一致。

參考文獻

1. Pyrogens, Remington's Pharmaceutical Sciences, p. 1985.
2. 38 FR 1404, January 12, 1973 FDA.
3. Jorgensen, J. H. and R. F. Smith, 1973. Preparation, sensitivity and specificity of Limulus lysate for endotoxin assay. *Appl. Microbiol.*, 26, 43-48.
4. Mikami, T., T. Nagase and Matsumoto, T. 1982. Gelation of the Limulus amebocyte lysate by simple polysaccharides. *Microbiol, Immunol.*, 26(5), 403.
5. Ward P. A. and J. H. Hill. 1972. Detection of Lipopolysaccharide: An Improved Method for Isolation of the Limulus Extract. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 141, 898.
6. Bacterial Endotoxins Test. USP XXI, 1985, P. 1165.
7. Draft Guideline for validation of the Limulus Amebocyte lysate Test as an

藥物食品檢驗局調查研究年報(Ann. Rept. FDB)

- End-product Endotoxin Test for Human and Animal Parenteral Drugs, Biological products and medical Devices 1983, Pharmacopeial Forum, P. 3012-3020.
8. Hochstein, H. D. 1981. The LAL test vs. the rabbit pyrogen test for endotoxin detection. *Pharm, Technol.*, 5(8), 36-42.
 9. Cooper J. F. and M. E. Neeley. 1980. Validation of the LAL test for end product Evaluation. *Pharm Technol.*, 4, 72.
 10. Christine W. et al. " Endotoxin contamination of parenteral Drugs and Radiopharmaceuticals as Determined by the LAL method" *J. of Parenteral Science and Technology*. Vol. 38. No. 5, 1984.
 11. Satish K. Sharma. 1986. " Endotoxin Detection and Elimination in Biotechnology". *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 8, 5-22.

ENDOTOXIN CONTAMINATION OF LARGE VOLUME PARENTERALS AS DETERMINED BY LAL METHOD

JUNG-TIAN HSIEH, SHIOW-YIH WEY AND CHIA PO LIN

ABSTRACT

From July 1985 to June 1986, We examined 549 samples of large volume parenterals by the limulus amebocyte lysate (LAL) method. Of the total samples tested, 9 (1.64%) were found

contaminating endotoxin. However, by using the official method for pyrogen test, none of the 9 endotoxin positive samples was able to induce typical fever response in rabbits.