

# 试剂应用与进展

冯海韵

湛江安度斯生物有限公司主编 2008年第1期(总第17期) 2008年12月23日

## 目 录

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| 关于抗生素产品鲎试验假阳性问题的探讨 .....    | 1  |
| 细菌内毒素检测或鲎试验的变异性 .....       | 5  |
| pH 条件对细菌内毒素检查的干扰及解决方法 ..... | 8  |
| 如何避免鲎试验的过敏现象 .....          | 10 |
| 凝胶法细菌内毒素检查的缺陷与讨论 .....      | 12 |
| 实验条件对细菌内毒素检查的影响 .....       | 13 |
| 内毒素分散剂 .....                | 17 |
| 超级酶标仪——理想的细菌内毒素检测工具 .....   | 19 |
| 最快捷的内毒素检测手段——PTS .....      | 20 |

## 关于抗生素产品鲎试验假阳性问题的探讨

冯聚锦 韦 群 (湛江安度斯生物有限公司)

自2006年底以来,我公司陆续接到一些用户有关抗生素产品鲎试验假阳性问题的反映。现将这一问题作分析及探讨如下。

### 一、反映问题的厂家及品种

| 产品厂家(代号) | 品 种        | 所使用鲎试剂厂家(代号) |
|----------|------------|--------------|
| M1       | 青霉素钠、头孢哌酮钠 | T1, T2       |
| M2       | 头孢哌酮钠      | T1, T2       |
| M3       | 头孢哌酮钠      | T2, T3       |

| 产品厂家(代号) | 品 种        | 所使用鲎试剂厂家(代号) |
|----------|------------|--------------|
| M4       | 头孢哌酮钠      | T1           |
| M5       | 头孢哌酮舒巴坦钠   | T1           |
| M6       | 头孢噻肟       | T1           |
| M7       | 头孢哌酮舒巴坦钠   | T1           |
| M8       | 头孢曲松钠      | T1           |
| M9       | 头孢类产品      | T1           |
| M10      | 头孢孟多酯钠     | T1           |
| M11      | 头孢哌酮钠      | T1           |
| M12      | 头孢米诺       | T1           |
| M13      | 头孢噻肟钠      | T1           |
| M14      | 头孢美唑钠      | T1           |
| M15      | 头孢哌酮钠、头孢西丁 | T1           |

注:上述统计截止 2007 年 10 底

## 二、实验分析

我公司实验室对部分细菌内毒素检查(BET)假阳性的抗生素样品(以 S<sub>+</sub> 表示)作了一些实验分析,结果见以下各表。

表 2:不同厂家的鲎试剂对 S<sub>+</sub> 反应的比较

| 鲎试剂厂家               | 批号/灵敏度         | A 样品<br>(1mg/mL) | B 样品<br>(3mg/mL) | 阴性对照 |
|---------------------|----------------|------------------|------------------|------|
| T1                  | 0704111/0.125  | ++               | ++               | ---  |
|                     | 0611202/0.06   | ++               | ++               | ---  |
| T2                  | 0511020/0.125  | ++               | ++               | ---  |
|                     | 0703190/0.06   | ++               | /                | ---  |
| T3                  | 07030312/0.125 | ---              | ++               |      |
|                     | 06110412/0.06  | ---              | /                |      |
| T1<br>(特异性试剂)       | 0704232/0.125  | ---              | ---              | ---  |
|                     | 0706082/0.06   | ---              | ---              | ---  |
| 美国<br>Endosafe(LAL) | H450L/0.25     | /                | ++               | ---  |
|                     | W3111X/0.06    | ---              | ---              | ---  |
|                     | R2222L/0.03    | ++               | ---              | ---  |

注:A 样品:韩国某厂,头孢美唑钠,6 #

B 样品:M2,头孢哌酮钠,2 #

表 3:同一试剂厂家(T1)不同批号试剂对同一 S<sub>+</sub> 反应的比较

S<sub>+</sub>:头孢哌酮钠,M2,编号 1~5 #,浓度均为 3mg/mL

TAL:T1,0.1mL/支,0.125EU/mL,4 批

| TAL 批号  | 1 # | 2 # | 3 # | 4 # | 5 # | 阴性对照 |
|---------|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| 0607112 | ++  | ++  | ++  | ++  | ++  | ---  |
| 0607181 | ++  | ++  | --- | --- | --- | ---  |
| 0608282 | --- | --- | --- | --- | --- | ---  |
| 0608212 | ++  | ++  | --- | --- | --- | ---  |

表 4:部分 S<sub>+</sub> 样品热原检查的结果

| S <sub>+</sub> 样品 | 厂家  | 批号/规格        | 热原检查结果 |
|-------------------|-----|--------------|--------|
| 头孢哌酮钠             | M2  | 1~5 #        | 全部合格   |
| 头孢哌酮钠             | M15 | 0.5,1.0,1.5g | 全部合格   |
| 头孢噻肟              | M3  | ?            | 合格     |

注:以上热原检查均由厂家自做。

表 5:对 S<sub>+</sub> 样品的干扰验证实验

### 1. S<sub>+</sub> 样品

A:头孢美唑钠,韩国某厂,84 #

B:头孢哌酮钠,M2,2 #

### 2. TAL:T1,规格 0.1mL/支

0705212:0.125EU/mL,普通试剂

0704021:0.125EU/mL,特异性试剂

0611201:0.06EU/mL,普通试剂

0706082:0.06EU/mL,特异性试剂

### 3. 标准内毒素:国家标准品,批号 981

### 4. 实验方法:按药典 BET 方法

### 5. 结果(见下表)

| S <sub>+</sub> 样品 | TAL     | E <sub>0.25</sub>  | E <sub>0.125</sub> | E <sub>0.06</sub> | E <sub>0.03</sub>  | NC  | 3mg<br>E <sub>0.25</sub>  | 3mg<br>E <sub>0.125</sub> | 3mg<br>E <sub>0.06</sub> | 3mg<br>E <sub>0.03</sub>  | A/3mg |
|-------------------|---------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-----|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|-------|
| A                 | 0705212 | ++                 | ++                 | ---               | ---                | --- | ++                        | ++                        | ++                       | ++                        | ++    |
| A                 | 0704021 | ++                 | ++                 | ---               | ---                | --- | ++                        | ++                        | ---                      | ---                       | ---   |
|                   |         | E <sub>0.125</sub> | E <sub>0.06</sub>  | E <sub>0.03</sub> | E <sub>0.015</sub> | NC  | 1mg<br>E <sub>0.125</sub> | 1mg<br>E <sub>0.06</sub>  | 1mg<br>E <sub>0.03</sub> | 1mg<br>E <sub>0.015</sub> | B/1mg |
| B                 | 0611201 | ++                 | ++                 | ---               | ---                | --- | ++                        | ++                        | ++                       | ++                        | ++    |
| B                 | 0706082 | ++                 | ++                 | ---               | ---                | --- | ++                        | ++                        | ---                      | ---                       | ---   |

除上述实验外,我们还做了一些 S<sub>+</sub> 样品的稳定性测试。实验结果表明 S<sub>+</sub> 样品还具有如下的一些性质:

1. 鲎反应的重现性差:部分 S<sub>+</sub> 样品这次鲎试验呈阳性,下次试验却呈阴性。
2. 鲎反应稳定性差:部分 S<sub>+</sub> 样品制备成检查浓度后,常温放置,鲎反应能力随放置时间延长而衰退。
3. 鲎反应能力热稳定性差:部分 S<sub>+</sub> 样品制备成检查浓度后置 70~75℃加热 10~15 分钟,鲎反应能力消失。

综合上述实验结果分析,我们的结论是:此类产品所含能激活鲎试剂的物质不是细菌内毒素,而是一类能激活鲎试剂 G 因子旁路反应的物质,即国际学术界命名为非内毒素的鲎反应物(LAL-Reactive Material, 缩写 LAL-RM 或 TAL-RM)。

### 三、国际学术界对 LAL-RM 的研究概要

1. 目前国际学术界普遍认为,已知的 LAL-RM 之一是(1-3)-β-D-葡聚糖。该类葡聚糖能激活鲎试剂中的 G 因子旁路,导致 BET 的假阳性。β-D 葡聚糖以不同分子量的形态存在,不同分子

量的葡聚糖对各种鲎试剂的反应能力不同。例如,较小分子量的 β-D 葡聚糖易激活 LAL,但对 TAL 却不反应;某种分子量的葡聚糖可能对这个厂家的鲎试剂反应,但对另一厂家的鲎试剂却不反应。

2. 国际学术界研究表明,无任何证据表明 β-D 葡聚糖对人体有害,目前无任何产品标准要求对该物质进行限制。当供试品中含有干扰 BET 试验的这类物质时,只需寻求方法消除这种干扰,无须视这种微量物质为产品的有害杂质。

3. 为了避免 β-D 葡聚糖对 BET 的干扰,美国 USP 在细菌内毒素检查法中要求,“鲎试剂(LAL)除了与内毒素反应外,还与某些 β-葡聚糖反应。某些经特殊处理制备的 LAL 不与 β-葡聚糖反应,对含有葡聚糖的样品作细菌内毒素检查时必须使用这种 LAL”。

4. 为避免 LAL-RM 对 BET 的干扰,许多鲎试剂厂家都已深入进行提高鲎试剂特异性的研究,目前在这方面的技术已比较成熟。检验这些技术是否可靠的一个基本原则就是药典 BET 法规定的供试品干扰试验:能通过干扰试验的方法为

可靠的方法,反之则为不可靠的方法。

#### 四、BET 假阳性问题的影响

1. 目前中国药典的 BET 法尚没有涉及 BET 假阳性问题,这使得各实验室在遇到此问题时如何进行处理缺乏法规依据。

2. 与细菌内毒素一样, $\beta$ -葡聚糖也是自然界普遍存在的物质。任何企业都难以确保自己的产品不受 TAL-RM 的污染。当企业在自己的实验室发现自己的产品会导致 BET 假阳性时,许多企业只能作出牺牲,把整批产品当作不合格产品报废处理。这样造成的经济损失往往是相当巨大的。即使产品通过自己的实验室检查放行,也不能保证产品在流通使用过程中的质量抽检不出现 BET 假阳性,因为各个实验室使用不同的 TAL,对抗 TAL-RM 干扰的能力不可能相同。

3. 随着 BET 法应用的扩展,BET 假阳性问题的反映逐年增加,已在药检领域造成一定程度的混乱。

#### 五、解决问题的建议

1. 在修订中国药典时,应对药典的细菌内毒素检查法作适当修订,增加消除 TAL-RM 干扰的指导内容。

2. 质检、药检人员应正确理解现行药典的 BET 法。我们认为,尽管现行药典在 BET 法中没有具体涉及对 TAL-RM 问题如何处理的条文,但该法明确指出:“当鲎试剂、供试品的配方、生产工艺改变或试验环境中发生了任何有可能影

响试验结果的变化时,须重新进行干扰试验。”这应理解为任何的 BET 试验结果是否成立,应以干扰试验的结果为判断标准:无干扰为成立,反之则不成立。现行 BET 法还对消除干扰的方法提供了指导:“可通过对供试品进行更大倍数的稀释或通过其他适宜的方法(如过滤、中和、透析或加热处理等)排除干扰。为确保所选择的处理方法能有效地排除干扰且不会使内毒素失去活性,要使用预先添加了标准内毒素再经过处理的供试品溶液进行干扰试验。”我们认为,现行 BET 法的这些阐述,已在一定程度上为各实验室解决 TAL-RM 的干扰问题提供了法规上的依据。

3. 建议由相关部门牵头,组成一个技术小组,对 TAL-RM 的干扰问题进行调查研究,提出一套解决此问题的方法,作为各 BET 实验室处理这类问题的统一方法。

4. 我们建议解决 TAL-RM 干扰的技术方案及程序

1) 当一个实验室对 BET 阳性结果产生怀疑时,可按以下程序对 BET 的结果进行验证:

- 使用不同厂家的鲎试剂重复检查;
- 或者使用有排除 TAL-RM 干扰效果的方法或辅剂处理供试品后重复检查;
- 或者使用具有抗 TAL-RM 干扰作用的特异性鲎试剂重复检查。

- 2) 如果上述复检的结果(即结果为阴性)与原鲎试剂检查的结果不符,应对所选择的方法进行干扰试验的验证。
- 3) 如果所选择消除干扰的方法经干

- 扰试验验证成立,可初步判定原鲎试剂检查的结果为 BET 假阳性。
- 4) 用热原检查法(兔法)对供试品作验证检查,如果结果合格,可判定该供试品细菌内毒素检查合格。

## 细菌内毒素检测或鲎试验的变异性

Dr. Hemnalini Kumar, Salesworth India Pvt. Ltd.

### 简述

鲎试剂(LAL)用户最常问的问题之一就是不同的实验分析人员,不同的鲎试剂生产商,不同灵敏度的试剂以及不同的方法进行鲎实验时的变异性。我们可从各种谈论这个问题的学术文章和书籍中总结出这些差异是由三种主要的来源造成的——试剂、样品和方法。

我们将从鲎试剂、内毒素和鲎试验本身来简要阐述这些差异。

### 鲎试剂(LAL)

在鲎试验中使用的试剂是来源于生物的制品,是用美洲鲎循环细胞中的阿米巴细胞通过渗透裂解提取制成的。它是不同的酶和辅助因子的混合物,溶液中出现内毒素时会激发其引起系列反应形成凝结。由于提取物是天然的混合物而不是单一的提纯酶,不能精确地确定每批提取酶的活性。虽然每个 LAL 生产商的提取和生产过程相类似,但他们各自有自己

的配方来制备不同灵敏度的试剂。这包括添加缓冲液、活性剂等等,这成为差异的来源。所有持牌生产商都必须按照美国 FDA 的生物制剂认证申请(BLA)灌装要求放行他们的试剂。

LAL 的酶的活性(标示为鲎试剂灵敏度,λ)是用 FDA 提供的内毒素参考标准品(RSE)来标定的,用 1 EU/mL 的 RSE 溶液制备 2 倍稀释系列进行实验。由于试剂的效价是用两倍稀释法进行测定的,它也是差异来源之一;例如标示灵敏度为 0.125EU/mL 的试剂的真正的灵敏度可能是 0.10EU/mL。

然而 RSE 并不提供给用户使用,因为它比较昂贵且损耗快,因此 LAL 生产商只供应内毒素工作标准品(CSE)给用户使用。CSE 的效价是用 RSE 对应每批鲎试剂标定的。每一批 LAL 和 CSE 组合都必须根据要使用的实验方法进行标定,试验完成后才能确定 RSE/CSE 比率。这说明鲎试验的早期管理是通过与

RSE 的直接比照来控制不同内毒素和不同批号的试剂在反应性上的差异, RSE/CSE 的比率在随每批 LAL 和 CSE 组合签发的分析证书(Certificate of Analysis)上标明。

要记住的很重要的一点是试剂原材料中的活性成分是生物制品, 生物实验在本质上要比化学实验更易变化。因为鲎试验比兔法热原实验更专一, 实验人员和审核人员容易忘记它是生物试验。要进一步指出生物试验和化学实验之间的不同, 可以参考对非大纲方法的化学品与生物制品实验的验证要求的不同之处。

### 内毒素

用于制备 CSE 的内毒素是从经过充分鉴定的大肠杆菌菌株中提纯的。CSE 是高度提纯的脂多糖(LPS), 理论上不含可测污染物, 特别是蛋白。它还含有象人血清白蛋白、PEG 和淀粉一样的稳定填充剂, 这样用来制备对照品和标准曲线时性能可靠以及可重现。这对确保其它所有实验参数均在可接受限值范围内是至关重要的。

另一方面, 环境或天然内毒素是未经提纯的 LPS、细胞膜蛋白与磷脂的大分子联合体。它们由革兰氏阴性细菌在正常生长期间不断释放到环境中, 它们有的聚集形成 3D 超分子结构(薄片状、立方体、六角形), 有的甚至含有比提纯 LPS 更少的蛋白和磷脂。

已推论出 LPS(已知恒定存在于所有的革兰氏阴性细菌)中的类脂 A 部分的毒性和反应性是依靠特定的细菌种类的 LPS 以非薄片状圆锥形结构, 激发目标细胞膜上的受体释放内毒素介体。LPS 更喜欢薄片状结构, 疏水类脂 A 部分是双分子膜的中心部分, 很少有或没有生物活性。这样, 溶液中这些内毒素大分子的构造和表现方式则是造成天然内毒素与鲎试剂之间反应差异的一个重要的因素。为了获得最佳的内毒素—鲎试剂反应, LAL 生产商经常修改试剂配方, 添加二价阳离子(二价镁离子和钙离子)、缓冲液、活性剂等。

### 鲎试验和实验室的变异性

广义上的鲎试验方法有两种——定性的凝胶法和定量的动态法

#### 凝胶法

凝胶法包括限量检测法(定性)和内毒素滴定法(半定量)。这两种方法都是使用包括试剂标示灵敏度在内的 4 个 CSE 浓度的内毒素标准品系列溶液, 至少每天随第一个实验制备一次。如果当天试剂批号、内毒素批号或检测条件发生变化那么需要重复该实验。具体的实验过程请参考附录 C: 1987 FDA 指南或 USP <85>细菌内毒素检查。

当反应终点在内毒素标准品系列中的试剂标示灵敏度的两倍稀释范围内时凝胶法实验结果有效(这说明实验本质上

存在两倍的误差/变异性)。一个有效的内毒素标准品系列首先确定了所使用的配套用品在规定的参数范围内以及添加了内毒素( $2\lambda$  浓度)制备的阳性产品对照(PPC)形成凝胶。实验重复两管进行,在所有凝胶法实验中,PPC 结果必须总是阳性(形成凝胶)实验才有效。

### 动态法

动态法试验包括显色法或浊度法,两种方法都要求使用分光光度计和软件进行实时数据采集,测定每个孔的颜色/浊度变化。使用专门的软件进行数据处理,结果以内毒素单位打印出来。

用 CSE 制备一条 2—4 个对数级的标准曲线,产品内毒素含量是通过比照该标准曲线计算出来的。实验重复两管进行,一个有效的实验必须在规定的参数范围内。在所有的动态法实验中,PPC 回收率必须是添加的内毒素的理论值的 50—200%。通常 RSE 曲线的斜率比 CSE 或环境内毒素制备的曲线的斜率有些微不同,这些不同的斜率会造成试验报告的内毒素值之间的差异,尤其是采自靠近最高和最低浓度的数据点的值。

### 配套用品和实验分析人员

检测试管(硼硅酸或燧石),一次性移液吸管,微量移液器吸头和 96 孔酶标板都会导致某些差异。实验分析技术是做实验时的另一个差异来源,即使所有的配套用品、试剂批号和实验用水都完全

相同,移液、制备对照标准品和稀释的小差异也都可能使凝胶法实验获得不一致的内毒素终点(或动态法实验的标准曲线线性回归数据不同)。

在动态法实验中,当标准曲线使用低浓度的 CSE(最低浓度可低至 0.005 EU/mL)时实验室配套用品和实验技术在导致差异方面起着很大的作用,聚苯乙烯酶标板和吸头的来源必须可靠,并经过恰当的 QA 验证,否则很容易发生酶标板内添加内毒素( $10\mu\text{L}$  CSE)的阳性对照孔的移液误差和交叉污染。

### 样品干扰

任何样品在检测前都必须经过干扰检测(抑制和增强),确定日常检测无抑制浓度(NIC)。生产时的批间差异(赋形剂、活性成分、容器)由于干扰模式的变化可造成检测结果的差异。

药品中的内毒素含量因产品—试剂环境可能表现各异,如果因为溶液中的结构构象发生变化导致类脂 A 的有效性提高,那么会导致更加有效的内毒素—试剂反应从而得到更高的内毒素值。

### 方法

由于鲎试验固有的  $\pm 2$  倍(50%—200%)误差,所以允许凝胶法实验中终点在内毒素标准品系列的  $2\lambda$ — $0.5\lambda$  之间时有效。因此当使用凝胶法内毒素滴定实验确定一个样品中的内毒素含量时,想通过重复两倍稀释获得更准确的内毒素值

是多余和不必要的。

鲎试验还允许动态法试验的 PPC 的可接受回收率是添加的内毒素的 50%—200% 之间。某些产品,用凝胶法和动态法检测同一个样品时,内毒素回收率的差异显而易见,凝胶法中获得阳性结果的 PPC 在动态法中的回收率可能只有 60%。虽然也是在可接受范围内,可见干扰导致的边缘内毒素回收率可影响动态法计算的内毒素含量。在这些情况下,当需要从凝胶法转用动态法时,Charles River 的灵敏度为 0.03 和 0.06EU/mL 可用于凝胶法和动态法的试剂是确定适当的 NIC 的好试剂。

在其它情况下,当从低灵敏度(例如 0.125EU/mL)转向高灵敏度(例如 0.03EU/mL)时,试剂的配方变化可导致产品中检测到的内毒素含量的差异。

总之,必须注意的是虽然有许多差异的来源,但是美国药典和美国 FDA 指南允许用户有 ±2 倍的误差区间,进行鲎实验时要记住这一点。因此强烈建议不要以内毒素限值放行产品,应保持 2—4 倍安全系数作为内控限值,这样可允许同样

的产品在其它实验室进行检测时有 ±2 倍的误差。

当 Karen McCulloch 向 Terry Munsen 先生(前 FDA 官员)提出这个问题的时候,他的回答如下:

问:如果你用 3 种不同的试剂(来自 3 个不同的生产商)检测你的产品而且内毒素结果均不同(差异高达 8 倍)时,你会怎么办?

答:使用 3 种试剂中最大的抑制终点进行检测,如果结果真的不同,取最高(最保守的)值。

这是我们在查看实验结果的差异时要记住的一个很好的经验之谈,它广泛适用于各种鲎实验情况。当然,当被检测的产品中没有内毒素或内毒素含量很低时,这些情况则不适用。然而,当产品中出现内毒素时,特别是当内毒素含量接近内毒素限值时,这样的处理显得尤为重要。

参考文献(略)

(刘少燕译自《ENDOSAFE TIMES》, Volume 12, No. 1, August 2006;冯聚锦校)

## pH 条件对细菌内毒素检查的干扰及解决方法

梁 进 (湛江安度斯生物有限公司)

据统计,绝大部分样品对细菌内毒素检查(BET)都存在干扰,仅有很少一部分

的样品不需要经过任何处理就可直接检查。有 97% 的样品干扰可以通过样品稀



释来消除,还有 3%的干扰需要经过物理、化学、生物或其他方法处理才能消除干扰。下面我们来探讨因 pH 原因导致的 BET 干扰以及消除干扰的方法。

### 一、细菌内毒素检查对 pH 的要求

影响鲎试剂与内毒素反应的因素很多,其中不合适的 pH 环境是导致 BET 出现抑制的重要因素之一。鲎试剂与内毒素的反应是一个多级的酶促反应过程,由内毒素活化的酶作用于凝固蛋白原产生不可逆的凝胶或微小沉淀,这个反应过程需要在中性的环境下才能顺利进行。2005 年版中国药典对细菌内毒素检查的 pH 条件有明确描述:“一般要求供试品溶液的 pH 值在 6.0~8.0 的范围”;美国药典、欧洲药典则要求鲎试剂与供试品溶液的等量混合物的 pH 值在 6.0~8.0 范围。

### 二、如何判断 pH 对 BET 的干扰

我们可通过以下的分析确定样品对 BET 的干扰是否由 pH 因素造成:

1、首先做干扰试验判断样品是否存在干扰。对于干扰试验结果进行分析,如果在检查浓度下有抑制,证明样品在检查浓度下存在干扰。

2、测定反应混合物的 pH 值是否符合要求。干扰试验证明干扰存在后,如果我们怀疑干扰是由于样品不合适的 pH 导致的,我们要对反应混合物的 pH 值进行测定分析。所要测定的反应混合物是

指样品检查浓度的稀释液与鲎试剂的混合物。正确的做法是:对同类样品进行三个批次的 pH 验证,将每批样品稀释至检查浓度,与鲎试剂等量混合,例如 1mL 稀释液与 1mL 鲎试剂混合,然后测定混合液的 pH 值。如果测定的 pH 值都在 6.0~8.0 范围内,我们可以得出结论:干扰不是由 pH 条件导致的,此样品的日常检查不需要进行 pH 测定和调节;如果测定的 pH 值不在 6.0~8.0 范围内,干扰有可能是个不合适的 pH 环境导致,需要对样品的 pH 进行调节和进行下一步实验分析。

3、调节 pH 到中性,再做干扰试验,分析干扰原因。对样品进行 pH 调节,使样品检测浓度的稀释液与鲎试剂的混合物的 pH 值在 6.0~8.0 范围内,再进行干扰实验。实验结果如果是无干扰的,我们可以得出结论:干扰是不合适的 pH 条件导致;如果实验结果依然存在干扰,就表明除 pH 因素外,还存在着其它的干扰因素。

### 三、消除 pH 干扰的方法

1、使用具有良好缓冲能力的鲎试剂。不同厂家生产的鲎试剂抗 pH 干扰的能力不同,有的鲎试剂与 pH 超范围的样品混合后也能把样品缓冲至中性,抗 pH 干扰能力较强。

2、增加样品的稀释倍数。稀释样品是消除任何干扰最简便的方法,但是稀释

的倍数不能超出样品的最大有效稀释倍数(MVD)。使用更高灵敏度的鲎试剂是提高有效稀释倍数的最好办法。

3、使用适宜的 pH 调节剂。在前面两个方法都无法消除 pH 干扰的情况下,我们可以使用调节剂进行 pH 调节。中国药典中提到可以使用酸、碱溶液或鲎试剂厂家推荐的适宜的缓冲液调节 pH 值。我们建议使用比较温和的 pH 调节剂,如:Tris 缓冲液或稀释剂 II。无论使用什么调节剂,都必须确认所使用的调节剂不含可测的内毒素或干扰物质。

最后就是要建立一个消除 pH 干扰的日常检查规程。通过选用合适的鲎试剂,或增加样品有效稀释倍数,或使用 pH 调节剂的方法消除 pH 干扰后,我们要建立一个可信的有效的实验规程:确定所使用的鲎试剂,样品的检查浓度,以及所使用的 pH 调节剂的种类和用量。规程建立后,日常的细菌内毒素检查就可以按照规程操作。

#### 四、如何避免 pH 干扰

除了样品自身 pH 导致的干扰难以避免以外,其他途径所导致的 pH 干扰我

们完全可以避免。通常从下面两方面进行控制:

1、确保实验用具干净无残留物。重复使用的实验玻璃器具通常使用强酸强碱洗液清洗,在清洗不干净有残留洗涤剂时,实验用具所带进来的酸碱可能会导致实验出现抑制,所以要确保实验用具清洗干净。有条件最好使用一次性使用的实验用具。

2、实验用水要符合细菌内毒素检查的要求。水作为溶剂如果 pH 条件不符合细菌内毒素检查的要求,可能会使标准内毒素效价衰减,出现阳性对照或产品阳性对照不成立的现象。我们建议使用专用的检查用水做实验。

#### 五、总结:

解决 pH 对 BET 干扰的方法有:

- 1、使用具有良好缓冲能力的鲎试剂。
- 2、增加样品的有效稀释倍数。
- 3、使用更高灵敏度的鲎试剂。
- 4、使用适宜的 pH 调节剂对样品进行调节。
- 5、使用无干扰的 BET 用具和 BET 水。

## 如何避免鲎试验的过敏现象

陈 瑜 (湛江安度斯生物有限公司)

你使用过鲎试剂吗? 你做鲎试验时 有出现眼睛刺痛、流泪、打喷嚏等现象吗?

如果有,这就是鲎试剂过敏! 鲎试剂的主要成分是海洋生物鲎的血液中的变形细胞溶解物。鲎与虾、蟹等海洋生物一样含有容易引起人体过敏的异体蛋白。鲎试剂如果没有与人体直接接触,是不会引起人过敏反应的。但在做鲎试验时,干燥细微的试剂粉末极易飘逸散布在空气中,接触到实验人员的眼膜及鼻腔粘膜,使实验者产生刺激性过敏反应。

可能有人问,鲎试剂能做成水剂吗? 这样不就可以避免产生上述的副作用了吗? 鲎试剂是具有生物活性的试剂。我们知道,要保存具有生物活性的物质最好的方法就是把它冷冻干燥,越干燥就越稳定。鲎试剂的质量标准规定,产品性状应为白色或类白色冻干块或粉末,在水和生理盐水中易溶,干燥失重项(水分)小于5%。质量稳定的鲎试剂水分含量较低,内容物比较干燥。但干燥的冻干块在包装、运输、使用等过程中易碎裂成粉末,粉末含异体蛋白极易引起使用者刺激性过敏反应。这就导致了鲎试剂的质量与使用相矛盾。如何才能既可使用上质量稳定的鲎试剂,又可避免这种刺激性过敏反应呢? 现介绍几个实验中的小窍门,供广大的鲎试剂使用者参考:

1. 尽可能减少鲎试剂粉末的逸出。质量稳定的鲎试剂其内容物干燥,在包装、运输、使用等过程中易碎裂成粉末而沾附在瓶壁上,使用者在折断安瓿瓶颈时,干燥的粉末就会随震动的作用从安瓿

口飘逸出来。我们在做鲎试验时,可先取出要使用的鲎试剂,轻弹安瓿外壁,使沾在安瓿内壁上的白色粉末掉落回瓶底,然后把安瓿竖立放置一旁,使悬浮的细微粉尘能够有足够的时间沉降到瓶底。在这段时间我们可以做鲎试验的其他项目,如稀释内毒素标准品,稀释供试品等等。到要使用鲎试剂时我们才开启先前已静置过一段时间的试剂,这样就能大大减少鲎试剂粉末的逸出。

2. 做实验时不开超净工作台的风机。鲎试验只要求在普通的实验室进行,实验工作台避免对着通风口。如果你还开着超净工作台做鲎实验的,尽可放心关掉超净工作台的风机,注意工作台不要对着室内的通风口及空调机的出风口。如果不放心,起码在开启鲎试剂时要关停超净工作台的风机,减少气流对粉末逸出的影响。

3. 选用大装量规格的鲎试剂。使用0.1mL/支规格的鲎试剂在实验中需要折断安瓿的次数比大装量规格的多几倍甚至几十倍,折断安瓿引起鲎试剂粉末逸出的次数也就多了很多。要减少折断安瓿的次数,最简单、最直接的方法就是选用0.5mL/支以上规格的鲎试剂。

实际上,每个人的体质不一样,对鲎试剂的过敏程度也不一样,这与遗传、生活区域、实验习惯等有着密切的关系。希望大家在使用质量稳定的鲎试剂同时也能避免过敏现象。

## 凝胶法细菌内毒素检查的缺陷与讨论

韦 群 (湛江安度斯生物有限公司)

目前世界各国药典所接受的细菌内毒素检查方法有凝胶法和光度法两大类,其中凝胶法又分凝胶限量法和凝胶半定量法两种。据资料统计,美国约 40% 的鲎试剂用户使用凝胶限量法,中国使用凝胶限量法的用户超过 90%。凝胶法鲎试剂成本较低,操作相对简易,这是它能被广泛接受的重要原因。但事物总有两重性,笔者认为,凝胶法鲎试剂也有它的缺陷。我们只有知道它的不足之处,才能更好地应用它。

笔者长期从事细菌内毒素检查的技术咨询服务工作,了解到质检人员有时会遇到这样一些现象,如某单位检验合格的产品投放到市面上被某药品检验所抽检时发现内毒素检查项不符合规定;或者某厂商检验合格的原料发货到另一厂商,在对方收货检验时被告知检验不合格;又或者某产品被自己单位不同检验人员或同一个检验人员检出不一致的结果。所有这些现象经调查又各自符合检验程序,结果均有效。很多质检人员对这些现象感到困惑,为什么使用不同供应商的同一种灵敏度的鲎试剂或者使用同一供应商同一种灵敏度但不同批号的鲎试剂检验结果会有明显的差异呢?为此,笔者愿意与各位分享本人对凝胶限量法的理解,并开展相关的讨论。

我们从凝胶法鲎试剂的反应机理知

道,鲎试剂是一种含各种生物活性因子和酶原的生物试剂,它能较专一地与细菌内毒素产生凝集反应。凝胶法鲎试剂的灵敏度就是根据凝集反应的程度来确定的,即定义能使凝集反应产生阳性结果的最低内毒素浓度为此凝胶法鲎试剂的灵敏度( $\lambda$ )。按相关规定,标定鲎试剂的灵敏度时,需要把标准内毒素制备成从 1.0 EU/mL 浓度开始 2 倍递减的系列溶液,如 1.0、0.5、0.25、0.125…… EU/mL。“产生阳性结果的最低内毒素浓度”就是指此系列溶液中的某个浓度。药典的细菌内毒素检查法规定,当复核一批鲎试剂的灵敏度时,如果得到  $1/2\lambda \sim 2\lambda$  的结果是可以接受的。这意味着,当一批鲎试剂的灵敏度标示值为  $\lambda$  时,它的实验值在  $1/2\lambda \sim 2\lambda$  之间是正常的。也就是说,凝胶法鲎试剂的精确度只有标示灵敏度的 50~200%。

在一般情况下,凝胶法鲎试剂都能满足细菌内毒素检查的要求。但当供试品的内毒素含量在鲎试剂精确度的“盲区”时,就容易出现本文前面所提到的检查结果的不确定性”。例如,当使用  $\lambda$  为 0.25 EU/mL 的鲎试剂检测内毒素含量在 0.125~0.5 EU/mL 的供试品时,容易出现这种不确定性。如果供试品是按最大有效稀释(MVD)制备的,制备供试品的原始样品的内毒素含量越接近内毒素限

值(L),也越容易出现不确定性。例如,当样品的内毒素限值  $L=0.5\text{EU/mL}$ ,内毒素含量在  $0.25\sim 1.0\text{EU/mL}$  时。

我们知道,鲎试验是一种生物试验。生物检查不可能达到化学检查、物理学检查那样的精确度。其次,鲎试剂灵敏度标定时鲎反应所处的介质是纯水(BET水),而细菌内毒素检查时鲎反应所处的介质是供试品溶液。不同的反应体系会对反应结果有不同的影响。此外,供试品的成分也会对鲎试剂与内毒素的反应产生不同程度的干扰。上述因素综合的影响,就会使细菌内毒素检查结果有时会出现异常,尤其是那些内毒素含量接近限值的产品更容易出现这种现象。

那么,我们怎样才能避免出现这种有争议的检验结果呢?笔者有两点建议:一、使用凝胶法检测内毒素时,不管是做产品放行检查或者是做产品内控检查,不宜以药典给出的内毒素限值作为产品质量的控制指标。药典给出的各种药品的内毒素限值,是对药品内毒素含量的最低

要求。生产企业最好以 $\leq 1/4$  限值作为内毒素控制标准(在欧美国家通常控制在 $\leq 1/10\sim 1/4$  限值),这样才可以保证所放行的产品在任何地方复检不会出现争议结果。当然这样会对生产条件提出更高要求,需要改善生产设施和条件,加强各工序的监控,从根本上提高产品质量,杜绝不合格产品。二、有条件的单位尽可能使用内毒素定量检测方法。定量检查的优点是检测结果可以得到一个准确的量值而不是一个区间值,能够根据定量的结果去决定产品是否可以放行。另外,定量检查都是通过仪器实现的,使用专用工作软件可以直观的显示反应的全过程,通过标准内毒素、样品内毒素与鲎试剂反应的曲线形态比较,对标准品的有效性、样品的干扰情况以及是否为假阳性反应等都可以很直观的进行分析,特别是对生产过程各工序点的监测更为适用,利用贮存标准曲线对不同时间段的样品进行实时检测,提前得到检验结果,缩短生产周期,为提高产品质量作出有效保障。

## 实验条件对细菌内毒素检查的影响

卓培泽 (湛江安度斯生物有限公司)

鲎试剂与内毒素的反应为多级酶促反应,生物酶反应受许多因素的影响。实验条件的不同,可能引起各次实验之间,各实验室之间结果的差异。在日常工作中,我们要注意实验条件对实验结果准确度的影响,如实验环境、实验材料、技术人

员技能、恒温孵育条件以及实验器具和设备等。

### 一、实验环境:

美国 ANSI/AAMISP10:2002 标准(《实验方法学和常规监控指南》)中提到

“细菌内毒素检查(BET)实验不需要在洁净房间或高效空气过滤环境中进行(除非由于样品原因需要保护检验人员,如检验人血制品时),但重要的是检验人员要熟悉并采用无菌操作以防止样品污染。”日常 BET 实验一般在洁净的实验环境下操作,避免较大空气对流引起尘埃飞扬。操作台不要对着通风口,操作前须洗手,穿工作服和戴口罩,防止污染。

用于凝胶法反应孵育的恒温器需放置在温度稳定,无振动的环境中。鲎试剂与内毒素所形成的凝胶是不可逆的,一旦凝胶受到振动就容易变形脱落,造成假阴性结果。用于光度法检查的仪器还需放置于无强光照的地方,以免影响仪器的数据采集。

## 二、实验材料

不合适的实验材料也能影响结果。用于 BET 实验的鲎试剂、标准内毒素、水和辅剂等应有厂家的合格证书才能使用。如检查用水不合适的 pH 值可能会引起内毒素的衰减而导致阳性对照无效。

不同批号的鲎试剂与同一批号内毒素匹配使用或同一批号鲎试剂与不同批号内毒素匹配使用时,内毒素的效价有可能不同,所以在更换其他批号试剂时,应对灵敏度进行复核,满足要求才能配套使用。

使用不同厂家的水、工作内毒素和鲎试剂做灵敏度复核,有可能结果不符合规定。由于不同厂家生产的鲎试剂的配方

不同其缓冲作用和二价阳离子水平有所不同,所用的鲎试剂复溶液成分不同。有的厂家把增感剂、二价阳离子加到复溶液中,而同一厂家生产的复溶液和试剂是经过匹配实验验证过的,所以要使用同一厂家配套的试剂、水和工作内毒素做实验。

## 三、恒温孵育

恒温孵育条件是影响实验结果的主要因素,包括时间和温度。

1、加样时间:鲎试剂在液态时极不稳定,在室温放置太久会影响反应灵敏度,而且在室温环境下样品或内毒素溶液与鲎试剂混合后,马上就会发生反应。所以加样结束后,应立即放入恒温器中孵育。

在夏季高温季节,如果同时检查样品批次较多,操作时间长,阳性对照不成立的现象时有发生。内毒素含量高的供试品在室温放置 10~20 分钟就可以和鲎试剂反应形成凝胶,内毒素与鲎试剂形成的凝胶为不可逆的,凝胶被破坏后将无法重新凝固。所以检查批次较多时,要分次加样。一般一次 4~5 个样品,减少加样操作的时间。

2、孵育时间:凝胶法实验规定的孵育时间为  $60 \pm 2$  分钟。实验证明,延长保温时间可提高鲎试剂的灵敏度。对于内毒素含量处于边缘值的样品,准确的保温时间很重要。边缘值样品有可能保温在 58 分钟之内为阴性结果而保温到 62 分钟之后就变成阳性结果。

3、封口时间:使用恒温水浴箱作孵育

器时需要控制试管封口的时间,封口的时间过长相当于延长了反应时间,对结果产生影响。

4、混合时间:由于细菌内毒素的结构特点,细菌内毒素国家标准品或工作标准品稀释时的混合时间与效价有一定的关系。在制备标准内毒素溶液的过程中要严格按照厂家说明书的要求控制内毒素旋涡混合的时间,否则有可能使内毒素的活性与标示值不一致。在日常工作中,由于工作内毒素的活性降低而导致的阳性对照不成立现象时有发生。

5、温度:凝胶法实验规定的反应孵育温度为  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 。温度对生物酶的活性有重要的影响,一般为温度高活性强,反应速度快。

为了保持鲎试剂的稳定性和内毒素的活性,实验室温度应控制在  $25^\circ\text{C}$  以下,防止强光照射。实验证明,孵育温度在  $25 \sim 41^\circ\text{C}$ ,鲎试剂的灵敏度随着温度升高而提高。

#### 四、实验器具和设备

1、用于 BET 实验的器具和设备必须定期进行维护和校准。如采用显色基质法或浊度法,必须按照仪器制造商的使用说明和要求对硬件和软件进行验证。同一样品用不同的仪器或不同的数据分析软件检测,读出来的数据可能不同。这就需要对仪器和数据分析软件进行考核之后才能使用。

2、用于取样、贮存或稀释的容器应无

内毒素,对实验无干扰作用。清洗玻璃器皿时要注意最后必须用新鲜蒸馏水冲洗,禁用纯化水和久置的蒸馏水冲洗。因为纯化水中存在各种离子有可能对酶反应产生抑制或增强作用。如果使用酸或碱溶液洗涤要将残余的洗液冲净,否则残留的酸碱溶液都有可能影响反应混合液的 pH 值,干扰实验结果。

3、内毒素稀释不宜用注射器,而应用经过校正的刻度吸管。因为注射器刻度准确性差,而且针栓壁磨砂面容易吸附内毒素而导致阳性对照不成立。

4、加样应用经过校准的移液器而不用刻度吸管。因为刻度吸管加样速度慢,延长操作时间而且加液量准确性较差。

5、使用恒温水浴箱须注意,试管要封口,否则水蒸气或水珠会进入反应试管内而造成污染。同时还要注意水的高度,要高于试管内反应混合液的液面,这样才能使反应液保温于  $37^\circ\text{C}$  的环境中。使用恒温水浴箱须给每支反应试管一一封口,既麻烦费时又延长了反应的时间影响实验精度,而且水浴箱加热不均匀,容易造成鲎试剂反应的差异。建议最好使用干式恒温仪。干式恒温仪有遮光防尘盖,试管不用封口,可以节省操作时间,而且加热温度稳定均匀,使用方便快捷。

总之,为了保证实验结果的准确性,我们要选择合适的实验环境、器具,严格按照操作规程进行实验。注意操作的细节,防止污染。我们可以通过做鲎试剂的灵敏度复核实验或标准曲线的可靠性实

验,验证实验环境、实验材料、器具和设备 内毒素检查实验的要求。  
及实验员的实验技能等是否符合做细菌

## 2008 年学术交流

2008 年 3 月:上海美洲鲎试剂(LAL)应用研讨班



受美国查尔斯河恩度斯弗公司(Charles River Endosafe, Inc.)的委托,2008 年 3 月 25~27 日,湛江安度斯生物有限公司在上海举办了第二届美洲鲎试剂应用研讨班。Endosafe 公司指派美国资深鲎实验专家 John Dubczak 先生和韩国 Hongjin Min 先生专程来上海为本次研讨班授课。

本次研讨班的内容从内毒素限量检查技术到新一代的细菌内毒素检测系统 PTS,从美国 USP 及 FDA 关于鲎实验的管理条例到 LAL 在美国医药工业上的应用,为学员提供了一次系统和全面的细菌内毒素理论与实践的培训。

2008 年 3 月:上海血液透析细菌内毒素检查学习班

细菌内毒素是污染药品及医疗器械的主要热原。为了帮助从事血液透析的机构开展细菌内毒素检查,湛江安度斯生物有限公司于 2008 年 3 月 28~29 日在上海举办了第一期与血液透析相关的细菌内毒素检测学习班。

2008 年 9 月:重庆医院感染监测与控制技术国际研讨会



重庆市医院感染控制中心于 2008 年 9 月 17~20 日举办了“医院感染检测与控制技术国际研讨会”。本次会议有来自内地及香港的医院感染控制专家和代表近 200 名出席。专家们就真菌检测在感染控制中的重要性、重点部门感染的目标性监测、烧伤感染的临床控制、医院内的消毒与灭菌、现代手术室的感染控制理念、微生物学与医院感染等专题作了精辟的讲演。湛江安度斯生物有限公司高级工程师冯聚锦先生应邀在研讨会上作了“血液透析相关的细菌内毒素检测”的专题学术发言。

2008 年 10 月:珠海血站、血液透析细菌内毒素检查学习班

为了帮助血液中心/血站、血液透析机构的质检人员正确地理解与细菌内毒素检查相关的法规与标准,掌握与血液、血液透析相关的医疗产品细菌内毒素检查技术,湛江安度斯生物有限公司于 2008 年 10 月 26~29 日在珠海举办了血站/血液透析相关的细菌内毒素检查技术学习班。

## 信 息

2009 年学习班消息

湛江安度斯生物有限公司计划于 2009 年上半年及下半年分别举办细菌内毒素检查技术基础学习班和细菌内毒素检查技术在生产质控中的应用学习班。具体的学习班消息请留意安度斯公司网站 <http://www.zacb.com> 或致电 0759-3391071 转 8029 咨询。

中国第 7 批内毒素国家标准品启用

来自中国药品生物制品检定所的消息:自 2007 年 12 月 25 日起,中检所启用中国第 7 批内毒素国家标准品,批号为:200707,效价 10,000EU/支;批号为 981 的第 6 批内毒素国家标准品同时停止使用。

## 内毒素分散剂

**用途:**内毒素分散剂是用于细菌内毒素检测的辅助溶液。该溶液的作用是在鲎试验的样品制备阶段分离和分散复合药品和生物制品的内毒素分子。美国 FDA 的《鲎试验应用指南》允许使用辅剂来消除鲎试验的干扰。

**成分:**本品含复合型表面活性剂

**原理:**细菌内毒素是革兰氏阴性细菌细胞壁外层的特有组分。自然产生的内毒素的主要成分是脂多糖(LPS),还含有磷脂和蛋白。用于制备内毒素参考标准品(RSE)和内毒素工作标准品(CSE)的内毒素是从革兰氏阴性细菌的“光滑型”菌株提取和纯化的内毒素,只含LPS。

LPS具有两性分子的结构,其脂质A端疏水而杂多糖端亲水。LPS的这种生物分子极性使得它们在水溶液中具有自我聚集的性质,形成大小不一的分子团。分子团的大小及分散程度与溶液的性质和成分有关。

鲎试验中,鲎试剂与内毒素的反应发生在LPS的脂质A区域,因此LPS分子团的状况对反应有重要影响。某些复合药品(如脂肪乳)或生物制品对LPS分子有较强的亲和力,使鲎试剂与内毒素的反应受到干扰。研究表明内毒素分散剂可分散来自光滑型或粗糙型菌株的LPS。在对复合药品和生物制品作鲎试验时使用内毒素分散剂,可使LPS在供试品溶液中的分布在大小和形状上更同质,减少鲎试验的干扰。

**使用方法:**

- 1、作干扰试验验证供试品对鲎试验确实有干扰。
- 2、使用内毒素分散剂稀释供试品至合适的浓度。
- 3、测定已用分散剂稀释的供试品溶液的pH值,如果pH值不是在6.8—7.6的最佳范围内,该供试品可能与鲎试验方法不兼容。
- 4、对用内毒素分散剂稀释的供试品溶液作干扰试验。应至少对3批样品进行干扰验证试验。
- 5、应在符合中国药典细菌内毒素检查法规定的条件下进行试验。

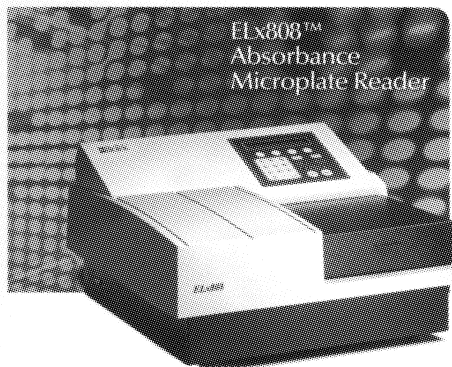
**注意事项:**

- 1、本品只供实验室使用,不用于人体或动物。
- 2、本品只适用于使用安度斯公司的鲎试剂进行鲎实验的样品制备。不要用该稀释剂去复溶鲎试剂。
- 3、本品为无色清澈时才可使用。

**储存条件:**在室温下保存,不要冷冻。

**产品规格:**内毒素分散剂每瓶25mL,货号:F-401。

## 超级酶标仪——理想的细菌内毒素检测工具



ELx808IU 超级酶标仪是美国 BioTek 公司生产的具有市场领导者地位的产品之一。BioTek 公司是通过 ISO9001/ISO13485 认证以及欧洲 IVD-D 认证的美国 FDA 注册的医疗器械生产商。

ELx808IU 超级酶标仪配有高质量、耐用的光学系统,胜任于任何 340~900nm 之间的比浊、比色分析。8 通道设计及独特的 4-Zone™ 温控系统,使其成为动力学分析的理想工具。ELx808IU 无需连接电脑可实现独立的仪器操作控制及数据处理。若与电脑连接并应用专业软件,可使仪器的强大功能发挥得淋漓尽致。

### 仪器特点:

- 1、丰富的面板控制及数据分析功能, 无需电脑可独立操作;
- 2、独特的 4-Zone™ 温控系统提供酶动力学反应所需的精确温控;
- 3、光纤交叉排列的光学探头,消除不同通道之间的交叉干扰;
- 4、可使用多波长同时分析,消除本底干扰,具有试管式检测仪不可比拟的优势;
- 5、仪器部件的高集成度设计,使仪器更坚固耐用,故障率极底。

### 应用领域:

- 1、《中国药典》细菌内毒素检查法接受的全部光度法细菌内毒素检查方法
- 2、药物筛选
- 3、ELISA 分析
- 4、动力学分析
- 5、酶分析
- 6、凝集分析

| 适用软件       | 功 能   |          |          |         |      |         |         |          |       |      |       |      |          |
|------------|---|----------|----------|---------|------|---------|---------|----------|-------|------|-------|------|----------|
| 生物探针 2     | 由湛江安度斯公司研发的细菌内毒素检测专用的中文软件,可提供《中国药典》细菌内毒素检查法接受的所有光度法内毒素检查方法,包括动态比浊法、动态显色法以及终点显色法。此外还包括用于内毒素快速检查的动态终点法以及生产质控应用的内毒素检测方法  |          |          |         |      |         |         |          |       |      |       |      |          |
| Endoscan-V | 由美国 Endosafe 公司研发的符合美国 FDA 要求的细菌内毒素检测专业英文软件   |          |          |         |      |         |         |          |       |      |       |      |          |
| Gen5       | 由 BioTek 公司研发的数据分析软件,应用领域:<br><table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td>基因表达</td> <td>药物筛选</td> <td>基于细胞的分析</td> <td>蛋白定量</td> </tr> <tr> <td>环境及食品检测</td> <td>FRET 分析</td> <td>受体配基结合分析</td> <td>动力学分析</td> </tr> <tr> <td>核酸定量</td> <td>毒理学实验</td> <td>发光检测</td> <td>ELISA 分析</td> </tr> </table> | 基因表达     | 药物筛选     | 基于细胞的分析 | 蛋白定量 | 环境及食品检测 | FRET 分析 | 受体配基结合分析 | 动力学分析 | 核酸定量 | 毒理学实验 | 发光检测 | ELISA 分析 |
| 基因表达       | 药物筛选  | 基于细胞的分析  | 蛋白定量     |         |      |         |         |          |       |      |       |      |          |
| 环境及食品检测    | FRET 分析   | 受体配基结合分析 | 动力学分析    |         |      |         |         |          |       |      |       |      |          |
| 核酸定量       | 毒理学实验   | 发光检测     | ELISA 分析 |         |      |         |         |          |       |      |       |      |          |

## 最快捷的内毒素检测手段——PTS

美国查尔斯河实验室公司(Charles River Laboratories, Inc.)研制的便携式细菌内毒素快速检测系统(PTS)已经获得美国食品药品监督管理局(FDA)批准上市。

### 巧妙的设计

PTS 利用预先置入了试剂的一次性检测卡片和便携式光度仪来进行细菌内毒素的快速定量检测。PTS 采用经改进的动态显色法鲎试验技术,样品直接加入到卡片中,PTS 仪器动态地测定卡片中每个通道的颜色变化。每个检测卡片有四个通道,其中两个通道置入了鲎试剂和显色底物,作为样品的检测通道;另外两个通道除了置入鲎试剂与显色底物外,还有标准内毒素,作为回收率检测通道,监测样品的干扰情况。

### 极简易的操作

用户只需把一次性检测卡片插入 PTS 仪器,然后在卡片的四个加样孔中每孔加入  $25\mu\text{L}$  样品,按下检测键即可完成实验操作。仪器自动吸入样品并使其与卡片中的鲎试剂、显色底物以及标准内毒素混合,自动测定每个通道样品的光度值变化并使用内存标准曲线自动进行分析。7~15 分钟后,样品的内毒素含量被显示在 PTS 仪器的屏幕上。

### 特 点

- 使用极灵敏可靠的动态显色法鲎试验技术
- 获得美国 FDA 认证
- 体积小巧,仅 1 公斤重,内置电源,可在任何现场使用
- 7—15 分钟可获得定量的检测结果
- 只需极简单的操作:插入检测卡片→加入样品→自动检测并显示检测结果
- 无需用户建立标准曲线
- 无外部恒温孵育要求
- 检测范围:  $10-0.1\text{EU/mL}$ ;  $5-0.05\text{EU/mL}$ ;  
 $1-0.01\text{EU/mL}$
- 可显示样品内毒素含量、回收率、变异系数
- 检测结果可贮存、打印或下载到电脑



湛江安度斯生物有限公司提供 PTS 的售后服务及技术支持。

---

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](mailto:ZACB@pub.zhanjiang.gd.cn)

---