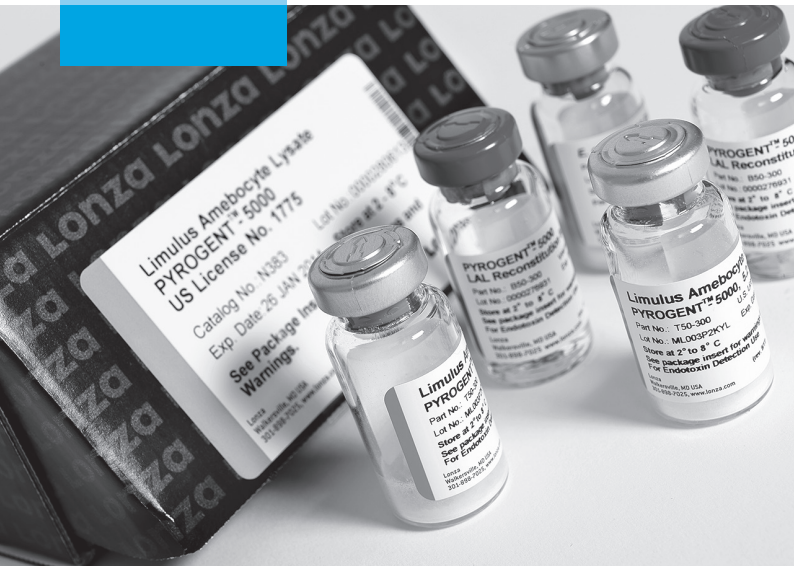
Pharma&Biotech

Lonza



鲎试剂 (LAL)
PYROGENT™-5000

美国许可证编号1775。翻译版本请登录 www.lonza.com获取

目录

章节		页码
1	既定用途	2
1	警告	2
1	检测说明	3
2	原理	4
2	所供试剂和储存条件	5
3	未提供的材料和设备	6
4	样品采集和制备	8
4	PYROGENT™-5000 试验的类型	9
5	试剂制备	11
6	检测程序	14

章节		页码
7	性能特点	17
7	内毒素浓度的计算	18
8	POWERCURVE™	21
9	样品抑制	23
9	抑制和增强	26
9	浑浊样品	26
9	存档的标准曲线	27
10	与其它方法的相关性	28
10	国际用户须知	28
10	参考资料	28

重要须知：请在检测前阅读本手册。

既定用途

本产品用于人用和动物用注射药物、生物制品及医疗器械的体外最终产物内毒素检测。本产品不可用于临床样品的内毒素检测，也不可用于辅助诊断人体疾病。本测试使用鲎试剂(LAL)和孵育酶标仪以及适当的软件，对内毒素进行光度检测。

药典概述了进行以下活动的必要程序：
1.设定药品和医疗器械的内毒素限值
2.验证LAL在最终产品内毒素检测中的作用
3.制定常规检测方案[9]
本文所述程序均依照药典指导规则进行制定。

警告

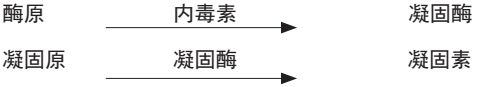
仅用于体外诊断。PYROGENT™-5000试验不可用于检测人的内毒素血症。按照药典中有关人用和动物用注射药物、生物制品和医疗器械的最终产品检测指导规则进行使用时，可采用USP家兔热原检测法取代LAL检测法[9]。

检测说明

PYROGENT™-5000是一种用于革兰阴性细菌内毒素动态定量检测试验的试剂。将一份样品与复溶后的LAL试剂混合，放入孵育酶标仪中，然后自动监测其随时间推移是否出现浑浊。出现浑浊之前所需的时间（反应时间）与存在的内毒素数量成反比。换言之，当存在大量内毒素时，反应时间很短，而内毒素较少时，反应时间较长。可通过标准曲线计算出未知样品中的内毒素浓度。

Bang[1]观察到，使用LAL检测内毒素，鲎（马蹄蟹）的革兰氏阴性感染导致致命性血管内凝血。Levin和Bang[2,3]之后证明，这种凝血反应是由于内毒素和一种可凝固蛋白质在鲎血液的循环变形细胞中发生反应造成的。开发出适合于鲎血液的抗凝剂后，Levin和Bang[4]用清洗过的变形细胞制备了一种溶解物，它是一种对内毒素极为敏感的指示剂。Solum[5,6]和Young、Levin和Prendergast[8]纯化并表征了LAL的可凝固蛋白质，并证明了与内毒素的反应将是酶促反应。Teller和Kelly[7]证明，可以对溶解物的内毒素活化情况进行光度监测。

原理



革兰氏阴性细菌内毒素催化了LAL中酶原的活化[8]。初始活化速率由内毒素的浓度决定。活化后的酶（凝固酶）水解了也存在于LAL中的凝固蛋白（凝固原）内的特定化合键。水解后，产生的凝固素自行联合，并形成凝胶状胶块。浊度法LAL试验可测定凝胶形成之前的浊度增加（光密度）。

所供试剂和储存条件

PYROGENT™-5000 LAL 试剂

(T50-300, T50-600) 黄色标记的试剂瓶

LAL试剂含有一种从马蹄蟹*（鲎）*循环变形细胞中制备的溶解物。使用前，按照下表用PYROGENT™-5000复溶缓冲剂进行复溶：

PYROGENT™-5000	PYROGENT™-5000 LAL
T50-300	5.2 ml/vial
T50-600	10.4 ml/vial

轻轻摇动，避免起泡。

重要须知：使用前，等待大约两(2)分钟，使所有气泡上升到瓶顶部。

将冻干的（未复溶的）PYROGENT™-5000 LAL在2-8°C温度下冷藏。避免暴露于37°C以上温度下。避免暴露在强光下。将变黄或不可溶的溶解物丢弃。复溶后的PYROGENT™-5000 LAL可在2–8°C的温度下保持稳定长达8小时。

PYROGENT™-5000 LAL 复溶缓冲剂
(B50-300)贴蓝色标签的试剂瓶**(B50-600)**贴绿色标签的试剂瓶
该缓冲剂必须用于为PYROGENT™-5000 LAL补充水分。使用缓冲剂前，等待其温度上升到室温。

将PYROGENT™-5000 LAL复溶缓冲剂储存在2-8°C温度下。
注：不包括在仅配备鲎试剂的试剂盒中，但需要使用。

E. *大肠杆菌* 055:B5 内毒素(7460)红色标记的试剂瓶
试剂瓶的复溶量参加检验证明书说明，计算得到的溶液含有100.0EU(或IU)/ml。用规定量的LAL试剂检查用水进行复溶。在旋涡混合器上漩涡混合至少15分钟。使用前，必须让储存的储备溶液温度上升到室温，并剧烈涡旋15分钟。这一点非常重要，因为内毒素容易附着在玻璃上。可登陆**www.lonza.com/coa**获取该检验证明书。

将冻干的内毒素储存在2-8°C温度下。复溶后的内毒素在2-8°C温度下可保持稳定长达四周时间。注：仅配备溶解物的试剂盒中不包括内毒素，但需使用内毒素。

提供内毒素是为了方便用户。可以使用其它内毒素制剂来制备标准品；但必须确定它们在浊度法试验的性能能够达到参考标准内毒素(RSE)的水平。

未提供的材料和设备

1. LAL试剂检查用水（#W50-640、#W50-100、#W50-500或等效物）。LAL试剂检查用水与细菌内毒素检查（BET）用水等效。

2. 氢氧化钠0.1N，或盐酸0.1N，溶于LAL试剂检查用水中，以便在必要时调节样本的pH值。

3. 一次性无内毒素玻璃稀释管（13 × 100 mm、#N207或等效物）。

4. 独立包装的无热源吸管。

5. 自动手持式移液管，配备无菌、独立包装或预装的移液管吸头。

6. 一次性无菌微孔板。注：常规使用前，应对微孔板进行预先鉴定[9]（#25-340或等效物）。

7. 八通道移液器。

8. 试剂槽（#00190035或等效物）。

9. 酶标仪（ELx808™ IU Reader、#25-315或等效物）。

10. WinKQCL™软件。

11. 计时器。

12. 旋涡混合器。

13. 对于无内毒素的试剂盒：内毒素标准品（与LAL匹配的对照标准内毒素）。

14. 对于无内毒素的试剂盒：PYROGENT™-5000 LAL复溶缓冲剂。

样品采集和制备

必须注意避免发生微生物或内毒素污染。与样品或检测试剂接触的所有材料必须无内毒素。将干净的玻璃器皿和材料在250°C温度下加热30分钟，使其无内毒素。应适当注意，防止无热原材料受到后续的环境污染。

根据经验，大多数经过消毒、独立包装的塑料移液管和移液管吸头都是没有内毒素的。但在常规使用前，应对这些材料进行检测。

可能需要使用无内毒素的氢氧化钠和盐酸，将样品的pH值调节到6.0-8.0之间。务必测定等分样品的pH值，以免被pH电极污染。请勿调节无缓冲的溶液。

待测样品必须储存在所有细菌活动受到抑制或内毒素水平不能随时间逐渐增加的条件下。例如，将样品在2-8°C的温度下储存不超过24小时，并冷冻超过24小时。最终用户有责任验证容器和储存条件是否适合其样品。

PYROGENT™–5000 试验的类型

孵育酶标仪和WinKQCL™软件是浊度法LAL试验不可或缺的组成部分。必须要熟悉温育酶标仪的操作和WinKQCL™软件的功能。请参阅孵育酶标仪和软件手册或“帮助”，了解更多详细信息。

有四(4)种基本类型的浊度法LAL试验，每种都用于进行LAL检测的不同环节。

1. 常规试验

   常规试验通过与一系列内毒素标准品的性能相比较，计算出未知样品中的内毒素浓度。作为常规试验的一部分，用户可将样品阳性对照(PPC)作为样品抑制或增强的指示器（见下文第2节）。PPC是已添加已知数量的内毒素加标的样品。WinKQCL™软件自动计算出PPC中回收的内毒素数量，从而与已知的内毒素加标量进行比较。

2. 抑制/增强试验

   LAL反应以酶为媒介，因此，其拥有最佳的pH范围，以及特定的盐和二价阳离子要求。有时，试样可能将这些最佳条件改变到溶解物对内毒素不灵敏的程度。样品抑制LAL检测的阴性结果并不一定表示样品没有内毒素。

抑制/增强试验的目的是确定哪个级别的样品稀释能够克服抑制或增强。每个样品稀释必须配一个阳性产物对照(PPC)。WinKQCL™ 软件自动计算出PPC中回收的内毒素数量，从而与已知的内毒素加标量进行比较。这样就能确定哪些稀释不会产生影响。

3. RSE/CSE

RSE/CSE试验用于确定对照标准内毒素(CSE)的效价(以参考标准内毒素(RSE)浓度单位为单位)。

该测定需要一个单一系列的RSE稀释液，和一组或多组CSE稀释液。WinKQCL™软件根据CSE的浓度单位自动计算平均效价值(单位EU/ng或EU/ml)。用户可输入EU或ng以外的单位。

4. 初始鉴定

“初始鉴定”试验按照药典[9]中所述的要求设计。该试验应作为LAL检测验证的一部分，也将采用各新批次的PYROGENT™-5000进行。

“初始鉴定”试验为每个内毒素标准品的每个平行管的各个反应时间值进行一个对数/对数线性相关性。其它试验使用每个标准品所有平行管的平均反应时间。

“初始鉴定”试验不包含任何样品。

试剂制备

使用前，使试剂温度自然上升到室温。

为了计算未知样品中的内毒素浓度，各个浊度法LAL试验必须参考一个有效的标准曲线。

由于可以确定内毒素值的浓度范围较大，可以通过调节用于产生标准曲线的内毒素标准品的浓度，调节任何特定检测的定量范围。至少需要三个标准品浓度。

PYROGENT™-5000 试验经过优化，在0.01 EU/ml到100.0 EU/ml范围内呈线性。但是，各用户可选择根据特定的样品要求，截断标准曲线。数据显示，截断一个浊度法LAL标准曲线可提高预测试样内毒素值的准确度。建议用户在确立用于样本[9]常规检测的浊度法LAL标准曲线范围之前，熟悉一下药典对动力学LAL技术的要求。

下表说明了用试剂盒中提供的内毒素构建一系列内毒素稀释液的稀释方案。并非必须使用所有稀释液来生成一个标准曲线。可使用替代稀释方案以及该试剂盒中未提供的其它内毒素。如果所用的内毒素不是试剂盒提供的，可能要进行一项RSE/CSE测试，以确定CSE的效价。

注：不建议使用塑料管稀释内毒素。

内毒素浓度(EU/ml)	LAL试剂检查用水的量	添加到LAL试剂检查用水中的内毒素溶液的量
10.0	0.9 ml	0.1ml 100.0 EU/ml的溶液
1.0	0.9 ml	0.1ml 10.0 EU/ml的溶液
0.10	0.9 ml	0.1ml 1.0 EU/ml的溶液
0.01	0.9 ml	0.1ml 0.10 EU/ml的溶液

1. 在适当容器中将0.1 ml的100.0 EU/ml内毒素储备液加入到0.9 ml的LAL试剂检查用水中，制备一份含有10.0 EU/ml内毒素的溶液，并标记10.0 EU/ml。继续下一步骤之前，应先将该溶液剧烈涡旋至少1分钟。

2. 在适当容器中，将0.1 ml的10.0 EU/ml内毒素溶液转移到0.9 ml的LAL试剂检查用水中，并标记1.0 EU/ml。继续下一步骤之前，应先将该溶液剧烈涡旋至少1分钟。

3. 在适当容器中，将0.1 ml的1.0 EU/ml内毒素溶液转移到0.9 ml的LAL试剂检查用水中，并标记0.10 EU/ml。继续下一步骤之前，应先将该溶液剧烈涡旋至少1分钟。

4. 在适当容器中，将0.1 ml的0.10 EU/ml内毒素溶液转移到0.9 ml的LAL试剂检查用水中，并标记0.01 EU/ml。继续下一步骤之前，应先将该溶液剧烈涡旋至少1分钟。

测试程序

重要须知：在实际的检测操作过程中，酶标仪必须放在不会发生过度振动（如离心机、振动筛）的区域。

请参阅酶标仪和WinKQCL™软件手册，了解与进行PYROGENT™-5000检测有关的更多详细信息。

1. 为将要进行的检测创建一个特定的模板。模板包含检验员的姓名、试验类型、试剂批号、内毒素标准品的数量和浓度、重复次数以及如何在微孔板上组织标准品和样品。

2. 试验类型必须设置为PYROGENT™-5000。不得在未事先进行鉴定的情况下更改默认的模板参数：

Delta t(秒)	60
测量过滤器(nm)	340
Delta mOD	30
读数的数量	100

3. 打印该模板，作为将标准品和样品放入微孔板的指南。

4. 出现WinKQCL™软件提示后，“运行”模板。

5. 小心地将100 µl的LAL阴性对照、内毒素标准品、样品、样品阳性对照（阳性产物对照说明见第23-25页）到微孔板的相应孔中。
   注：必须避免出现气泡！

6. 将填充后的微孔板放入酶标仪中，并拉上盖子。

7. 将微孔板在37°C ± 1°C的温度下预孵育至少10分钟。

8. 在预孵育快要结束时，用PYROGENT™-5000复溶缓冲剂对各个PYROGENT™-5000试剂瓶（T50-300试剂瓶用5.2 ml，T50-600试剂瓶用10.4 ml）进行复溶。轻轻地充分混合。使用前，使所有气泡上升到试剂瓶顶部。
   注：请勿旋涡震荡溶解物。

9. 将试剂放入试剂槽中，并轻轻地左右摇动试剂槽，进行混合。

10. 使用一个八通道移液器将100µl的PYROGENT™-5000试剂分配到微孔板的所有孔中，从第一列(A1-H1)开始，按顺序到使用的最后一列。尽快加入试剂。
注：避免产生气泡！

11. 立即点击WinKQCL™软件上的“确定”按钮，启动检测。
注：将微孔板盖取下，采用PYROGENT™-5000试验进行检测。

性能特点

线性

应对浓度范围内用于测定内毒素值的标准曲线的线性进行验证。应按照“初始鉴定”试验的检测参数，对涵盖所需浓度范围的不少于3种内毒素标准品和一个LAL阴性对照进行至少三次重复试验。应包含其它标准品，不包括标准曲线范围内的每个对数区间。

计算出的标准曲线的相关系数(r)的绝对值应≥0.980。

重现性

应采用重复样品，以便达到良好的技术水平和较低的变异系数。变异系数(C.V.)等于反应时间的“样品”标准偏差除以平均数，通常以百分比表示。重复样品反应时间的C.V%应低于10%。根据经验，应可达到3~4%。

计算内毒素浓度

酶标仪/WinKQCL™软件在整个试验中连续地监测微孔板各孔在340nm处的吸光度。酶标仪采用各孔的初始吸光度读数作为自身的空白，确定吸光度增加到0.03吸光度单位所需的时间。该时间称为反应时间。WinKQCL™ 软件自动将各标准品的反应时间与其对应的内毒素浓度进行对数/对数线性相关。标准曲线参数印于打印输出的报告上。如果相关系数(r)的绝对值≥0.980，可使用一个多项式模型构建一个标准曲线，再预测试样的内毒素浓度。该多项式曲线拟合模型(POWERCURVE™)是软件的一项重要功能（见POWERCURVE™，第21页）。

线性回归

下列信息是WinKQCL™软件如何进行对数/对数线性相关，并计算未知样本中内毒素浓度的示例。无需单独进行这些计算。对于每种产物的每个样品，WinKQCL™软件用该样品的反应时间计算相应的内毒素浓度。该软件对最终的测试结果值进行自动调整，从而对任何样品稀释的情况作出解释。

线性相关
示例计算

标准品	浓度	平均反应时间	Log浓度	Log平均反应时间
阴性对照	-	不反应	-	-
S1	0.010 EU/ml	103	-2.000	3.492
S2	0.100 EU/ml	484	-1.000	3.171
S3	1.000 EU/ml	808	-0.000	2.907
S4	10.000 EU/ml	485	1000	2.686
S5	100.000 EU/ml	312	2.000	2.494
样品				
1	-	1576	-	3.198
2	-	943	-	2.975

$$\text{斜率} = \left(\frac{Sy}{Sx}\right)r$$

$$\text{Y-截距} = \sum y/N \quad (\sum x/N \times \text{斜率})$$

$$r = \frac{N\sum xy - (\sum x)(\sum y)}{N(N-1)SxSy}$$

$$\text{内毒素浓度} = \text{antilog}\left[\frac{\log\text{平均反应时间} - \text{Y-截距}}{\text{斜率}}\right]$$

$x = \log_{10}$ 内毒素浓度（单位EU/ml）。
$y = \log_{10}$ 平均反应时间。
N = 所用的标准品数量。
$\sum x = \log_{10}$ 所用标准品的浓度（单位EU/ml）的总和。
$\sum y = \log_{10}$ 反应时间的总和。
$\sum xy = \log_{10}$ 标准浓度倍数 $\log_{10}$ 平均反应时间的总和。

Sx =x 的标准偏差=$\sqrt{\frac{N\sum x^2-(\sum x)^2}{N(N-1)}}$

Sy = y的标准偏差=$\sqrt{\frac{N\sum y^2-(\sum y)^2}{N(N-1)}}$

使用示例数据计算：

$N = 5$

$\sum x = 0.000 = (-2.000 - 1.000 + 0.000 + 1.000 + 2.000)$

$\sum y = 14.75 = (3.492 + 3.171 + 2.907 + 2.686 + 2.494)$

$\sum xy = -2.481 = (-2.000 \times 3.492) + (-1.000 \times 3.171) + (0.000 \times 2.907) + (1.000 \times 2.686) + (2.000 \times 2.494)$

$Sx = 1.581$

$Sy = 0.394$

$r = \frac{5(-2.481) - (0.000)(14.75)}{5(5 - 1)(1.581)(0.394} = -0.996$

斜率 $= \frac{0.394}{1.581} \times -0.996 = -0.248$

Y-截距 $= \frac{14.75}{5} - \left[\frac{0.000}{5} \times (-0.248)\right] = 2.950 - \left[(0) \times (-0.248)\right] = 2.950$

样品 1

内毒素浓度EU/ml = $\text{antilog}\left[\frac{3.198 - 2.950}{-0.248}\right]$

= $\text{antilog}\ (-1.000)$

= 0.100 EU/ml

样品 2

内毒素浓度EU/ml = $\text{antilog}\left[\frac{2.975 - 2.950}{-0.248}\right]$

= $\text{antilog}\ (-0.101)$

= 0.793 EU/ml

POWERCURVE™

如果相关系数(r)的绝对值≥0.980，可使用一个多项式模型构建一个标准曲线，并预测试样的内毒素浓度。已经确定，该多项式模型(POWERCURVE™)可提高在整个内毒素范围内（5-log）预测内毒素浓度的准确度。使用POWERCURVE™模型需要使用WinKQCL™软件。

使用POWERCURVE™时，用log_{10}反应时间值和其相应的log_{10}内毒素浓度产生一个标准曲线，定义一个多项式方程。多项式方程用于产生回归曲线的阶是由试验中内毒素标准品的数量确定。多项式的阶将始终低于内毒素标准品的数量，对于有有四个或五个内毒素标准品的试验，最多是四阶多项式，对于有三个标准品的试验，最少是二阶多项式。

可使用WinKQCL™ POWERCURVE™软件，为这些多项式方程寻找解决方案。下面提供的信息是使用第19页中线性相关示例中的相同数据集的多项式方程解法的示例。

多项式(POWERCURVE™)模型

Y	=	$A + BX + CX^2 + DX^3 + EX^4$
A	=	2.90741
B	=	-0.24066
C	=	0.02111
D	=	-0.00219
E	=	0.00007

标准曲线参数印于打印输出的报告上。WinKQCL™ POWERCURVE™ 软件可运用这些参数，从各样本的反应时间计算出相应的内毒素浓度。该软件对最终的测试结果值进行自动调整，从而对任何产物稀释的情况作出解释。

必须注意，POWERCURVE™多项式模型无法用于“初始鉴定”试验。在这些情况下，仍必须使用线性回归。此外，仅对龙沙供应的Kinetic-QCL™和PYROGENT™-5000试剂评估了POWERCURVE™多项式模型。

样品抑制

试样中的物质影响LAL反应时，会发生样品抑制。在浊度法LAL试验中，该抑制导致反应时间变长，表明内毒素水平低于试样中可能存在的内毒素。应确定各个具体样品（未稀释或进行适当稀释）的样品抑制。

为了对样品抑制作用的缺失进行验证，将已知数量的内毒素加入等分的试样（或试样的稀释液）中。

建议内毒素加标使样本中的最终内毒素浓度等于0.1 EU/ml。对于可能含有背景内毒素水平 >1 EU/ml的样本，内毒素加标应使最终的内毒素浓度达到1.0 EU/ml。

在抑制/增强试验中，对加标溶液(PPC)和未加标样品及其各自的内毒素浓度进行检测，并自动计算加标样本中回收的内毒素。回收的内毒素应等于已知加标浓度的 50% 到200%[9]之内。

可制备等分的加标试样（或稀释液），如以下示例：

试管法
将50 µl的10.0 EU/ml溶液转移到4.95 ml的试样（或稀释液）中。该溶液含有试样（或稀释液）中0.1 EU/ml的内毒素浓度。使用前，应对该溶液剧烈涡旋一分钟。

按照试验模板的指导，将100 µl该溶液转移到96-微孔板中。

微孔板法 #1
按照试验模板的指导，将10 µl的1.0 EU/ml溶液转移到96-微孔板中的各个PPC孔中。在这些孔中加入0.1ml的试样（或稀释液）。现在每个孔都将含有0.1 EU/ml 溶液。轻敲板的一侧，使其轻轻混合。

微孔板法 #2

按照试验模板的指导，将0.1 ml试样（或稀释液）放入96-微孔板中的PPC孔中。在这些孔中加入10 µl的1.0 EU/ml溶液。现在每个孔将含有0.1 EU/ml溶液。轻敲板的一侧，使其轻轻混合。

若发现试样（或稀释液）会抑制浊度LAL反应，则可能需要进一步稀释样品，直到克服抑制。

示例：非抑制稀释的测定

样品稀释	回收的内毒素
1/10	0.015抑制
1/20	0.042抑制
1/40	0.110非抑制

开始时，有人可能想通过测试试样的10倍稀释液，筛查样品抑制。测定近似的非抑制稀释之后，可通过测试该溶液的2倍稀释液，发现准确的稀释倍数。

抑制和增强

抑制或增强的程度将取决于样品的浓度。如果将对同样样品的几个浓度进行检测，必须单独确定每个浓度的性能特点。

可能发现抑制或增强形式与传统的LAL凝胶法测试不同。

可能需要使用无内毒素的氢氧化钠和盐酸，将样品的pH值调节到6.0~8.0之间，从而克服抑制。

浑浊样品

明显浑浊的样品可能需要在测试前进行澄清处理。可通过对样品进行离心、过滤或稀释，达到澄清的目的。

存档的标准曲线

WinKQCL™ 软件可使用一个存档的标准曲线运行。如果PYROGENT™-5000试剂、LAL试剂检查用水、缓冲剂和内毒素的当前试剂批号以及酶标仪参数与用于产生一个有效的存档标准曲线的批号相匹配，可使用存档的标准曲线，而非对96-微孔板采用新的内毒素标准。

若采用了存档的标准曲线，应根据对数，对存档的标准曲线中的最高和最低内毒素标准的内毒素浓度之间含有等于中点的内毒素浓度的单一标准对照进行检测。预测的内毒素浓度应在其已知值的±25%以内。

例如，在采用100.0到0.01 EU/ml标准曲线的试验中，应检测等于1.0 EU/ml的标准对照。

log100.0	=	2.0
log0.01	=	-2.0
log平均值	=	0.0
antilog0.0	=	1.0

在一个标准曲线范围从1.0到0.01 EU/ml的试验中，应检测一个等于0.1 EU/ml的标准对照。

log1.0	=	0.0000
log0.01	=	-2.0000
log平均数	=	-1.0000
antilog-1.0000	=	0.1

与其它方法的相关性

FDA管理LAL测试在美国的正式使用。在传统的凝胶试验和比浊法中，不同内毒素制剂的效价不相同。已经使用PYROGENT™-5000试验，将本套件中提供的内毒素标准和USP参考标准内毒素(RSE)进行了比较，当使用指定批号的检验证明书中规定的量进行复溶时，效价为100.0 EU/ml。从本标准稀释的校准曲线将产生相对于RSE的0.01到100.0内毒素单位/ml。但是，应该记住，传统的凝胶试验通过2倍稀释液进行标准化，因此与标准化是连续，变化最小的浊度LAL测试中的相比，会出现很大的变化。

国际用户须知

如果其它监管机构采用了其它性能标准，应满足这些标准，以便在其管辖范围内实现合规。

参考资料

1. Bang, F.B. A bacterial disease of *Limulus polyphemus*. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 98:325 (1956).

2. Levin, J. and F.B. Bang. The role of endotoxin in the extracellular coagulation of *Limulus* blood. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 115:265 (1964).

3. Levin, J. and F.B. Bang. A description of cellular coagulation in the *Limulus*. *Bull Johns Hopkins Hosp.* 115:337 (1964).

4. Levin, J. and F.B. Bang. Clottable protein in *Limulus*: its localization and kinetics of its coagulation by endotoxin. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 19:186 (1968).

5. Solum, N.O. Some characteristics of the clottable protein of *Limulus polyphemus* blood cells. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 23:170 (1970).

6. Solum, N.O. The coagulogen of *Limulus polyphemus* hemocytes. A comparison of the clotted and non-clotted forms of the molecule. *Thromb. Res.* 2:55 (1973).

7. Teller, J.D. and K.M. Kelly. A turbidimetric *Limulus* amebocyte assay for the quantitative determination of Gram negative bacterial endotoxin. In Biomedical Applications of the Horseshoe Crab (Limulidae), Cohen, E., Ed., A.R. *Liss, Inc., New York, N.Y.* p. 423 (1979).

8. Young, N.S., J. Levin, and R.A. Prendergast. An invertebrate coagulation system activated by endotoxin: Evidence for enzymatic mechanism. *J. Clin. Invest.* 51:1790 (1972).

9. United States Pharmacopeial Convention. General Chapter <85> Bacterial Endotoxins Test. *United States Pharmacopeia* (USP).

10. European Directorate for the Quality of Medicines. Chapter 2.6.14 Bacterial Endotoxins Test. *European Pharmacopoeia* (EP).

11. Ministry of Health, Labour, and Welfare, General Chapter 4.01 Bacterial Endotoxins Test. *Japanese Pharmacopoeia* (JP).

12. U.S Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, *Guidance for Industry Pyrogen and Endotoxins Testing: Questions and Answers* (June 2012).

www.lonza.com/pharmabiotechchina
检验证明书：www.lonza.com/coa

联系方式

客户服务：+86 21 6340 3488
+86 013071208275
lbs.china@lonza.com
科学支持：+1 301 898 7025
scientific.support@lonza.com

Lonza Walkersville, Inc. – Walkersville, MD 21793

ELx808™是BioTek Instruments, Inc的商标。

除非另作说明，本文中所有商标均为龙沙集团有限公司或其子公司的商标。本文所含内容均认为是正确的，符合最新科学技术知识。但我们并未对其准确性或因使用这些信息而出现的结果做明示或暗示的担保。买方承担所有使用和/或处理方面的风险。任何用户必须自行决定，保证龙沙集团或其子公司提供的产品、信息与建议 (i) 符合既定工艺或用途，(ii) 符合环境、健康和安全法规，(iii) 不会侵犯任何第三方的知识产权。

© 2015年Lonza. 版权所有。
保留有权利。

00527376 PN383-8-CN 10/15 RT-MN013_CN