



鲎试剂 (LAL) Kinetic-QCL™

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 Kinetic-QCL™试验的类型	8
4 样品采集和制备	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 有色样品	26
10 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
11 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. 制定日常检测方案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。Kinetic-QCL™ 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⁸。

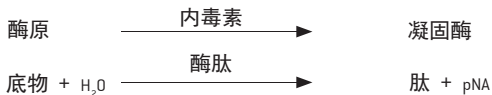
检测说明

Kinetic-QCL™ 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。

Bang¹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Bang⁴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Prendergast⁸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。

现有的LAL方法利用LAL内毒素反应的初始部分激活酶，激活后的酶又从合成底物释放出对硝基苯胺(pNA)，产生黄色。

原理



革兰氏阴性细菌内毒素催化了LAL中酶原的活化⁷。初始活化速率由内毒素的浓度决定。活化后的酶催化了无色底物Ac-Ile-Glu-Ala-Arg-pNA释放出pNA。在整个孵育过程中，用光度法连续测量405nm处的游离pNA。通过将其反应时间与标准曲线比较，计算出样品中的内毒素浓度。

所供试剂和储存条件

Kinetic-QCL™试剂(K50-643) 贴黄色标签的试剂瓶

每瓶含有用马蹄蟹（鲎）的循环变形细胞制备的溶解物和显色底物的冻干混合物。

使用前，应立即将每瓶2.6ml的LAL试剂用检查用水进行复溶。如果需要使用超过1小瓶的内容物，使用前应至少储备两瓶。轻轻摇动，避免起泡。将冻干的Kinetic-QCL™试剂储存在2-8°C温度下。防止长时间受到光照。

复溶后的Kinetic-QCL™试剂应立即使用。复溶后的Kinetic-QCL™试剂可在2-8°C温度下保持稳定达8小时，或在-10°C或更低的温度下可保持长达两周时间。仅进行一次冻结和解冻。

E. 大肠杆菌 055:B5 内毒素(E50-643) 红色标记的试剂瓶

试剂瓶的复容量参见检验证明书(CoA)中的说明，并且经过计算，可得到含有50 EU（或IU）/ml的溶液。用规定量的LAL试剂检查用水进行复溶。在旋涡混合器上以高速剧烈漩涡混合至少15分钟。使用前，必须让储存的储备溶液温度上升到室温，并剧烈漩涡混合至少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。

冻干的大肠杆菌 055:B5内毒素应储存在2-8°C的温度下。复溶后的内毒素储备液可在2-8°C的温度下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；但必须确定它们在显色测定法中的性能能够达到参考标准内毒素(RSE)的水平。

LAL试剂检查用水(W50-640) **贴黄色标签的试剂瓶**

每瓶含有30 ml的LAL试剂检查用水。该检查用水用于为Kinetic-QCL™和大肠杆菌内毒素补充水分，并制备内毒素和样品稀释液。LAL试剂检查用水与细菌内毒素检测(BET)用水等效。

LAL试剂检查用水应储存在2-8°C温度下。

注：仅配备溶解物的试剂盒中不包括LAL试剂检查用水，但需要使用LAL试剂检查用水。

未提供的材料和设备

1. 一次性内毒素玻璃稀释管（13×100mm，#N207或等效物）。
2. 独立包装的无热源吸管。

3. 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。
4. 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⁸（#25-340或等效物）。
5. 试剂槽（#00190035或等效物）。
6. 八通道移液器。
7. 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。
8. 酶标仪（ELx808™IU 酶标仪、#25-315或等效物）。
9. WinKQCL™软件。
10. 计时器。
11. 旋涡混合器。
12. 对于无检查用水的试剂盒：LAL试剂检查用水（#W50-640、#W50-100、#W50-500或等效物）。
13. 内毒素标准品（与LAL匹配的对照标准内毒素）。

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。但在常规检测使用前，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情况下。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。

如果用于为Kinetic-QCL™试剂补水的稀释剂的容器之前已经打开，或者该容器并非由龙沙提供，则必须对稀释剂进行单独检测，以确定其是否受到内毒素污染。

Kinetic-QCL™ 试验的类型

孵育酶标仪和WinKQCL™软件是Kinetic-QCL™试验不可或缺的一部分。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Kinetic-QCL™试验，每种都用于进行LAL检测的不同环节。

1. 常规（日常检测试验）

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产物样品。WinKQCL™软件自动计算出PPC中回收的内毒素含量，从而与已知的内毒素加标量进行比较。

2. 抑制/增强

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鲎试剂溶液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样品对照 (PPC)。WinKQCL™ 软件自动计算出PPC中回收的内毒素含量，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力值（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⁸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Kinetic-QCL™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。

为了计算未知样本中的内毒素浓度，各Kinetic-QCL™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范围，调节任何特定检测的定量范围。至少需要三个内毒素标准品浓度。

Kinetic-QCL™ 试验经过优化，在0.005 EU/ml到50.0 EU/ml范围内呈线性。但是，各用户可根据特定的样品要求，选择截断标准曲线。数据显示，截断一个动态显色法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品⁸常规检测的动态显色法LAL标准曲线范围之前，熟悉一下药典对动态LAL检测法的要求。

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浓度的稀释方案。并非必须使用所有稀释浓度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
5.0	0.9 ml	0.1ml 50.0 EU/ml的溶液
0.5	0.9 ml	0.1ml 5.0 EU/ml的溶液
0.05	0.9 ml	0.1ml 0.5 EU/ml的溶液
0.005	0.9 ml	0.1ml 0.05 EU/ml的溶液

1. 在适当容器中将0.1 ml的50.0 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5.0 EU/ml内毒素的溶液，并标记5.0 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5.0 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0.5 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0.5 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0.05 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0.05 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0.005 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

请参阅酶标仪和WinKQCL™软件手册，了解进行Kinetic-QCL™检测的更多信息。

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. 试验类型必须选择Kinetic-QCL™。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)	150
测量过滤器(nm)	405
Delta mOD	200
读数的数量	40

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。

- 小心地将100 μ l的LAL阳性对照、内毒素标准品、样品、样品阳性对照（样品阳性对照说明见第22-24页）到加入微孔板的相应孔中。
- 将加入反应物后的微孔板放入酶标仪中，并拉上盖子。
- 将微孔板在 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 的温度下预孵育至少10分钟。
- 在预孵育快要结束时，用2.6 ml的LAL试剂检查用水对各个Kinetic-QCL™试剂瓶进行复溶。轻轻地充分混合。
注：请勿旋涡震荡鲎试剂溶解物。
- 将试剂倒入试剂槽中，并轻轻地左右摇动试剂槽，进行混合。
- 使用一个八通道移液器将100 μ l的Kinetic-QCL™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！
- 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，进行Kinetic-QCL™试验。

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种内毒素标准品浓度和一个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405nm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0.200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20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	0.005 EU/ml	4351	-2.30103000	3.63858908
S2	0.05 EU/ml	2496	-1.30103000	3.39724458
S3	0.5 EU/ml	1406	-0.30103000	3.14798532
S4	5.0EU/ml	895	0.69897000	2.95182304
S5	50.0 EU/ml	561	1.69897000	2.74896286
样品				
1	-	1576	-	3.19755621
2	-	943	-	2.97451169

$$\text{斜率} = \left(\frac{S_y}{S_x} \right) r$$

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

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

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

$x = \log_{10}$ 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。

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

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

使用示例数据计算：

$$N = 5$$

$$\sum x = -1.50514998 = [-2.30103000 - 1.30103000 - 0.30103000 + 0.69897000 + 1.69897000]$$

$$\sum y = 15.88460488 = [3.63858908 + 3.39724458 + 3.14798532 + 2.95182304 + 2.74896286]$$

$$\begin{aligned} \sum xy = -7.00641653 &= [-2.30103000 \times 3.63858908] + [-1.30103000 \times 3.39724458] \\ &+ [-0.30103000 \times 3.14798532] \\ &+ [0.69897000 \times 2.95182304] \\ &+ [1.69897000 \times 2.74896286] \end{aligned}$$

$$S_x = 1.58113883$$

$$S_y = 0.35225503$$

$$r = \frac{5[-7.00641653] - [-1.50514998](15.88460488)}{5(5-1)(1.58113883)(0.35225503)} = -0.99857152$$

$$\text{斜率} = \frac{0.35225503}{1.58113883} \times -0.99857152 = -0.22246740$$

$$\begin{aligned} Y\text{-截距} &= \frac{15.88460488}{5} - \left[\frac{-1.50514998}{5} \times (-0.22246740) \right] \\ &= 3.17692098 - [(-0.30103000) \times (-0.22246740)] = 3.1099516 \end{aligned}$$

样品 1

内毒素浓度

$$\text{EU/ml} = \text{antilog} \left[\frac{3.19755621 - 3.10995162}{-0.22246740} \right]$$

$$= \text{antilog} [-0.396]$$

$$= 0.404 \text{ EU/ml}$$

样品 2

内毒素浓度

$$\text{EU/ml} = \text{antilog} \left[\frac{2.97451169 - 3.10995162}{-0.22246740} \right]$$

$$= \text{antilog} [0.60880796]$$

$$= 4.063 \text{ EU/ml}$$

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浓度点的数量确定。多项式的阶将始终低于内毒素标准浓度点的数量，对于有五个或更多内毒素标准浓度点的试验，最多是四阶多项式，对于有三个标准的试验，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18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

$$Y = A + BX + CX^2 + DX^3 + EX^4$$

$$A = 3.0837355$$

$$B = -0.2043195$$

$$C = 0.0289368$$

$$D = -0.0059597$$

$$E = -0.0050336$$

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Kinetic-QCL™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）的样品抑制情况。

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0.5 EU/ml。对于可能含有背景内毒素水平 >1 EU/ml的样品，内毒素加标应使最终的内毒素浓度达到5.0 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加标已知浓度的50%到200%之内⁸。

可制备等分的加标试样（或稀释液），如以下示例：

试管法

将50 μ l的50.0 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0.5 EU/ml的内毒素浓度。使用前，应对该试样剧烈涡旋一分钟。

按照试验模板的指导，将100 μ l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 μ l的5.0 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0.1 ml的试样（或稀释液）。现在每个孔都将含有0.5 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）放入放入96-孔板中的PPC孔中。在这些孔中加入10 μ l的5.0 EU/ml溶液。现在每个孔将含有0.5 EU/ml溶液。轻敲板的一侧，使其轻轻混合。

如果发现试样（或稀释液）会抑制Kinetic-QCL™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	0.125 抑制
1/20	0.212 抑制
1/40	0.550 非抑制

开始时，有人可能想通过测试试样的10倍稀释液，筛查产物抑制。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。

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。

有色样品

由于采用各孔的初始吸光度读数作为自身的空白，本身具有明显颜色的样品不会引起特殊的问题。如果背景色 ≥ 1.5 吸光度单位，应对样品进行稀释并重新进行试验。

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Kinetic-QCL™试剂、LAL试剂检查用水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曲线。

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 $\pm 25\%$ 以内。

例如，在采用50.0到0.005 EU/ml标准曲线的试验中，应检测等于0.5 EU/ml的标准对照。

log50.0	=	1.6990
log0.005	=	-2.3010
<hr/>		
log平均数	=	-0.3010
antilog-0.3010	=	0.5

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

log1.0	=	0.0000
log0.01	=	-2.0000
<hr/>		
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。在传统的凝胶法和显色法试验中，不同内毒素制剂的效价不相同。已经通过Kinetic-QCL™试验，将本试剂盒中提供的内毒素标准品与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50.0 EU/ml。从本标准稀释的校准曲线将产生相对于RSE的0.005到50.0内毒素单位/ml。但应记住，是采用2倍稀释液对传统的凝胶试验进行标准化，因此与标准化连续、变化最小的Kinetic-QCL™试验中的相比，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. 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].
8. United States Pharmacopeial Convention. General Chapter <85> Bacterial Endotoxins Test. *United States Pharmacopeia* [USP].
9. European Directorate for the Quality of Medicines. Chapter 2.6.14 Bacterial Endotoxins Test. *European Pharmacopoeia* [EP].
10. Ministry of Health, Labour, and Welfare, General Chapter 4.0.1 Bacterial Endotoxins Test. *Japanese Pharmacopoeia* [JP].
11. U.S Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, *Guidance for Industry Pyrogen and Endotoxins Testing: Questions and Answers* [June 2012].

注释

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。保留所有权利。
00527377 P50-650U-14-CN 12/15 RT-MN008_CN
