

## Endotoxin Assay Kit

### 细菌内毒素检测试剂盒（动态显色法）0.005-10EU/mL

产品编号	产品名称	规格
BL5616A	细菌内毒素检测试剂盒(动态显色法)0.005-10EU/mL	96T

#### 产品简介:

细菌内毒素能特异性地激活反应主剂中的 C 因子，活化的 C 因子激活 B 因子，活化的 B 因子进而激活凝固酶原，凝固酶水解反应中的显色底物，产生游离的 pNA（对硝基苯胺）从而引起吸光度变化，根据动态检测溶液吸光度变化率对细菌内毒素浓度进行定量。用于定量测定人用和动物用注射药物、生物制品及医疗器械等样本中的细菌内毒素的含量。

#### 产品组分:

产品编号	产品名称	规格	
BL5616A-1	R1 反应主剂	4×2.6mL	
BL5616A-2	R2 工作标准品	6×粉末	按标签所示使用 R3 检查用水复溶
BL5616A-3	R3 检查用水	3×8mL	
BL5616A-4	R4 主剂复溶液	4×3mL	
BL5616A-5	R5 微孔板	1 块	

#### 使用方法（仅供参考）:

##### 一、检验方法

##### 1、内毒素限值的确定

药品、生物制品的细菌内毒素限制（L）一般按以下公式确定：

$$L=K/M$$

L 为供试品的细菌内毒素限制，一般以 EU/mL、EU/mg 或 EU/U（活性单位）表示；

K 为人每千克体重每小时最大可接受的内毒素剂量，以 EU/(kg·h)表示，注射剂=5 EU/(kg·h)，放射性药品注射剂 K=2.5 EU/(kg·h)，鞘内用注射剂 K=0.2 EU/(kg·h)；

M 为人用每千克体重每小时的供试品剂量，以 mL/(kg·h)、mg/(kg·h)或 U/(kg·h)表示，人体重按 60 kg 计算，人体表面积按 1.62 m<sup>2</sup> 计算。注射时间若不足 1 小时，按 1 小时计算。供试品每平方米体表面积剂量乘以 0.027 即可转换为每千克体重剂量（M）。

##### 2、供试品溶液的制备

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



当供试品需要控制的内毒素限值（L）大于鲎试剂的灵敏度值时，需要用检查用水对供试品进行稀释，计算公式如下：

$$MVD=cL/\lambda$$

MVD：供试品的最大有效稀释倍数；

L：供试品需控制的内毒素限制（EU/mL）

c：为供试品溶液的浓度，当 L 以 EU/mg 或 EU/mL 表示时，则 c 等于 1.0mL/mL，L 以 EU/mg 或 EU/U 表示时，c 的单位需为 mg/mL 或 U/mL。如供试品为注射用无菌粉末或原料药，则 MVD 取 1，可计算供试品的最小有效浓度

$$c=\lambda/L$$

$\lambda$ ：为细菌内毒素检测试剂盒标示灵敏度（EU/mL），本产品灵敏度下限为 0.005EU/mL。

举例：某供试品需要控制的内毒素限值为 1EU/mL，使用灵敏度  $\lambda=0.005\text{EU/mL}$  作为检测下限进行细菌内毒素检查，则  $MVD=200$  倍，即供试品最大可稀释 200 倍。

### 3、细菌内毒素标准品溶液制备

（1）溶解：取 R2 工作标准品 1 支，按标签所示使用 R3 检查用水复溶，置涡旋混匀器上混匀至少 10min，得 10EU/mL 细菌内毒素标准品溶液。

（2）稀释：内毒素梯度浓度 10、1、0.1、0.01EU/mL，每稀释一步均应在涡旋混匀器上剧烈震荡至少 1 分钟。内毒素标准溶液配制可参考下表。

内毒素浓度（EU/mL）	检查用水体积（mL）	加入内毒素浓度（EU/mL）	加入内毒素体积（mL）
1	0.9	10	0.1
0.1	0.9	1	0.1
0.01	0.9	0.1	0.1

若稀释的内毒素溶液静置时间超过 10 分钟，用前须在涡旋混匀器上剧烈震荡 1 分钟，放置 4 小时以上的内毒素溶液应丢弃。

4、阴性对照：为检查用水。

5、主剂复溶：取主剂复溶液 2.6mL 溶解反应主剂，振荡混匀，静置待用。

### 6、实验操作

（1）在微孔板中分别加入 100 $\mu\text{L}$  标准品、阴性对照以及供试品溶液，至少 2 个复孔。

（2）向加有标准品、阴性对照以及供试品溶液的微孔中加入 100 $\mu\text{L}$  反应主剂溶液；

（3）检测前，微孔板震动 5~10s。设定 Onset OD=0.05~0.2（起始点与终点 OD 的差值），在 37°C 下，波长 405nm 下进行检测 90min，反应结束后得启动时间（T）。

### 7、结果计算

（1）建立标准曲线  $\lg T=b \lg C+a$

其中：T 为启动时间，C 为内毒素的浓度，b 为直线斜率，a 为 Y 轴截距。

（2）根据标准曲线计算样品内毒素浓度。

**注意：为保证检测结果准确性，检测时请在 5min 内将反应主剂加入到待检测微孔板中。**

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



## 二、供试品的干扰试验

当对新药或无内毒素检查项的品种建立内毒素检查法时，必须进行干扰试验；当试剂、供试品的来源、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，必须重新进行干扰试验；当供试品中可能存在试剂的干扰物质时，须进行干扰试验。步骤如下：

1、选择标准曲线中点或一个靠近中点的内毒素浓度（设为  $\lambda m$ ），作为供试品干扰试验中添加的内毒素浓度。

2、用供试品溶液配制浓度为  $\lambda m$  的内毒素溶液（即含  $\lambda m$  内毒素的供试品阳性对照），测量出该溶液的内毒素浓度，称为  $C_s$ ；

3、测量出未添加外源内毒素的供试品溶液内毒素浓度，称为  $C_t$ ；

4、计算该试验条件下的回收率  $R = (C_s - C_t) / \lambda m \times 100\%$ ；

5、当  $R$  在 50%~200%之间，则认为在此试验条件下供试品溶液不存在干扰作用。

6、当  $R$  在 50%~200%之外，需对供试品进行系列稀释或进行其它处理消除干扰，每一稀释溶液都重复步骤 2-4，直到内毒素的回收率  $R$  在 50%~200%之间。选择回收率  $R$  最接近 100%的稀释倍数进行内毒素检测。

## 三、产品性能指标：

重复性：试剂盒启动时间  $T$  重复检测结果的 CV (%) 值应不大于 10%。

线性：在浓度 0.005EU/mL~10EU/mL 范围内，其线性相关系数的绝对值 $\geq 0.980$ 。

空白：标准曲线最低点的  $T$  值小于阴性对照的  $T$  值。

## 注意事项：

1、本品仅用于体外细菌内毒素的定量检测，禁止试剂以任何途径进入人体。

2、试剂盒使用前仔细检查试剂盒是否破损和阅读产品说明书，发现错误和缺损禁止使用，以免影响测定结果。

3、试剂盒中的成份可能会导致皮肤和眼睛疼痛，也可刺激黏膜和上呼吸道，应避免与皮肤接触，避免吸入和食入。

4、实验操作应在无菌无热原的环境下，避免微生物病原体污染，该说明书中除热原指内毒素浓度小于 0.005EU/mL。

5、供试品的 pH 值应在 6.0~8.0 之间，若超出此范围，需用除热原的缓冲液、0.1M 氢氧化钠或 0.1M 盐酸调节。

6、当供试品中可能存在试剂的干扰物质时，须进行干扰试验。

7、不同批次试剂盒组分不能混用。

8、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

9、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 保存条件：

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。





4°C 保存，产品开封前可保存 24 个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

电话:400-600-4213

邮箱:techserv@labgic.com

