

# 试剂应用与进展

司海韵

湛江安度斯生物有限公司主编 2005年第1期(总第14期) 2005年2月28日

## 细菌内毒素检测新技术及新产品专刊 (I)

### 目 录

1. 一种有效消除样品干扰的细菌内毒素定量检查方法——同体系模型法
2. 20分钟 OK! ——介绍一种新的细菌内毒素快速检查试剂盒
- ③ 光度测定法介绍(1) ——终点显色法及其试剂盒
- ④ 一种新的细菌内毒素定量检测专用软件——“生物探针 2002”简介
5. 你还在使用恒温水浴箱吗? ——推荐一种新型试管恒温仪
6. 学习班消息

### 导 读

中国药学界鸡年的头等大事应是《中国药典》2005年版的发行及实施。新版药典收录的细菌内毒素检查法正式接受了光度法(即定量法)内毒素检测技术,使中国的内毒素检测在方法学上与国际全面接轨。我们将在随后的各期《进展》中陆续向读者介绍光度法内毒素检测技术。

如同其它领域的技术进步一样,细菌内毒素检测领域新的方法学、新技术以及新产品不断问世。为了帮助从事细菌内毒素检测工作的同行们更好地了解内毒素检测技术的发展,我们计划出版两期内毒素检测新技术及新产品专刊。本期专刊的内容见本期目录。下期专刊的内容预告如下:

1. 光度测定法介绍(2) ——动态比浊时间法
2. 一种内毒素定量检测新方法——动态终点法
3. 一种新型便携式内毒素快速定量检测仪介绍
4. 定量检查的好帮手——标准内毒素套餐
5. 体外热原检查法

《试剂应用与进展》编辑部

# 一种有效消除样品干扰的细菌内毒素定量检查方法

## ——同体系模型法

湛江安度斯生物有限公司 冯聚锦

### 一、现行细菌内毒素检查方法学的缺陷分析

我们都知道，不同的样品对细菌内毒素检查（BET）干扰的类型及程度不同。通常我们都认为是样品的成份、浓度或 pH 值等因素导致干扰，没有更多地去考虑现行的 BET 方法是否合理。其实我们对干扰的原因作更深入的分析，不难发现，绝大部分的干扰来源于现行 BET 方法的缺陷！

我们以现行的动态比浊时间法为例讨论该方法的缺陷。我们知道，作定量 BET，首先要用鲎试剂（TAL）与标准内毒素反应来制备一条标准曲线（即建立数学模型），然后用这条标准曲线去测读 TAL 与样品反应得到的数据（时间值），从而计算出样品中的内毒素含量。当我们制备标准曲线时，是用水（BET 用水）来稀释标准内毒素的，也就是说 TAL 与内毒素的反应（我们简称为 T-E 反应）是在以纯水为介质的体系中进行的；当使用 TAL 去检查样品时，T-E 反应是在以样品溶液为介质的体系中进行的。反应体系的差异对 T-E 反应有影响吗？让我们来讨论以下的实验结果。

#### 1. 反应体系差异对 T-E 反应速度（时间）的影响

##### 1.1 实验方法

用水（W）稀释标准内毒素至 0.25EU/mL 浓度（记为  $E_{0.25}$ ）；取一正常人血浆样品（记为 S），用水稀释 10 倍（记作  $S_{10}$ ）；同样把 S 稀释 10 倍，但在稀释过程加入标准内毒素使其含 0.25EU/mL 浓度的标准内毒素（记作  $S_{10}E_{0.25}$ ），然后置  $S_{10}$  及  $S_{10}E_{0.25}$  于 75℃ 恒温水浴加热 10 分钟。取 TAL 分别与  $E_{0.25}$ 、 $S_{10}$  及  $S_{10}E_{0.25}$  在动态试管检测仪上反应。所有实验操作按 BET 法要求进行。

##### 1.2 实验结果

同一 TAL 与 0.25EU/mL 标准内毒素分别在水介质（W）及样品介质（ $S_{10}$ ）中反应的结果见图 1。图中的透光度预设限取 92%，反应时间  $T_w = 1775$  秒， $T_s = 2995$  秒， $T_s > T_w$ 。

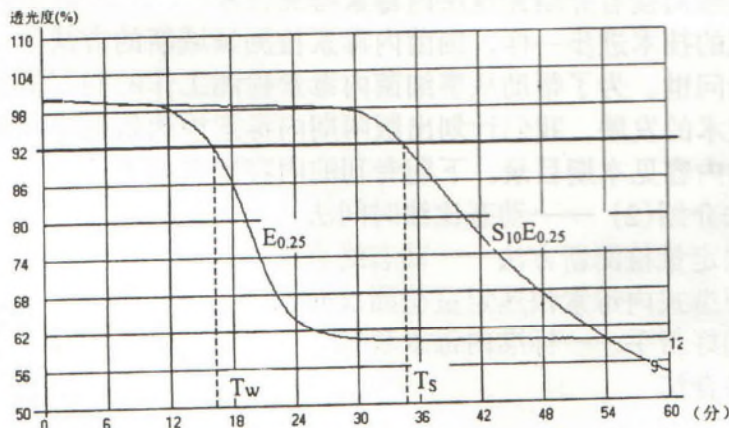


图 1. 同一 TAL 与 0.25EU/mL 标准内毒素在不同体系中反应的状况

### 1.3 讨论

从图 1 中可看到, 两个完全相同的 T-E 反应, 在水介质 (W) 中进行与在样品介质 ( $S_{10}$ ) 中进行, 其反应时间  $T_W$  及  $T_S$  是不同的 ( $T_S > T_W$ )。按照动态比浊时间法, 如果用同一条标准曲线来测读, 会得出两个不同的内毒素浓度  $C_W$  及  $C_S$  ( $C_S < C_W$ ), 但事实上两个 T-E 反应的内毒素浓度都是 0.25EU/mL。通常称  $C_S < C_W$  为抑制干扰,  $C_S > C_W$  为增强干扰。由此可见反应体系的差异影响反应速度 (时间), 导致干扰。

## 2. 反应体系差异对 T-E 反应趋势的影响

### 2.1 实验方法

取一正常人血浆样品 (记为 Z), 按 1.1 实验方法制备或  $E_{0.1}$ 、 $Z_{10}$  及  $Z_{10}E_{0.1}$ , 分别与 TAL 在动态试管检测仪上反应。所有实验操作按 BET 法要求进行。

### 2.2 实验结果

同一 TAL 与 0.1EU/mL 标准内毒素分别在水介质 (W) 及样品介质 ( $Z_{10}$ ) 中反应的结果见图 2; 当取不同的透光度预设限时, 反应时间的比较见表 1。

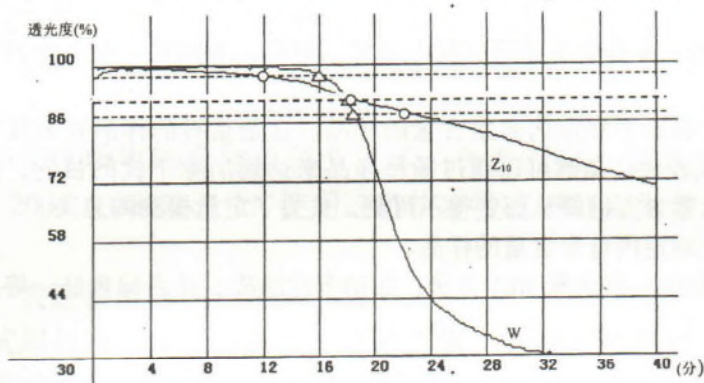


图 2. 同一 TAL 与 0.1EU/mL 标准内毒素在水及  $Z_{10}$  介质中反应的状况

表 1. 取不同透光度预设限时的反应时间比较

透光度预设	$T_Z$ (秒)	$T_W$ (秒)	比较
95%	948	1036	$T_W > T_Z$
92%	1106	1075	$T_W \approx T_Z$
89%	1313	1107	$T_W < T_Z$

### 2.3 讨论

图 2 是两个相同的 T-E 反应在不同反应介质中进行的动态曲线。如果我们取不同的透光度预设限。如图中三条横虚线所示, 会得到三组不同的  $T_W - T_Z$  值 (见表 1)。如果我们仅用由一个反应体系制备的标准曲线来测读这些时间值, 会得到三组相互矛盾的内毒素浓度 (C): 95%:  $T_W > T_Z$ ,  $C_W < C_Z$ ; 92%:  $T_W \approx T_Z$ ,  $C_W \approx C_Z$ ; 89%:  $T_W < T_Z$ ,  $C_W > C_Z$ 。这种不合逻辑的现象是由于不同反应体系的反应趋势差异所导致的。图 2 中两条反应动态曲线的走向明显表明了这种反应趋势差异的存在。

综合上述的讨论, 我们知道 T-E 反应在不同的体系中进行会有不同的表现。现行的 BET 方法采用在一个反应体系 (BET 用水) 中制备的标准曲线去衡量在另一个反应体系 (样品溶液) 中反应得到的数据 (时间值), 正是两种反应体系的差异导致干扰。

在实验出现干扰时,我们通常会采用稀释样品的方法来消除干扰。稀释样品实际上就是缩小样品溶液体系与水体系的差异。从理论上说,任何减小反应体系差异的方法都能够减小或消除干扰!由此我们自然会提出这样一个问题:能否在同一体系中建立数学模型(即制备标准曲线)并进行检测,从根本上消除体系的差异呢?答案是肯定的。我们提出了一种以样品溶液为反应介质制备标准曲线的方法,并命名这种方法为同体系模型法(专利号:03126794.7)。

## 二、同体系模型法的建立

我们以人血液的 BET 为例,介绍同体系模型法(以下简称同体系法)的建立。(由于篇幅所限,有关同体系法的建立方法介绍详见湛江安度斯生物公司编写的讲义《细菌内毒素检测技术与应用》)

## 三、同体系模型法的应用

1. 如下类型的样品适合应用同体系法作检查:

- 1) 对 BET 有强烈的干扰且用通常的方法仍未能消除干扰的样品,如血浆或某些血液制品。
- 2) T-E 反应趋势与在水体系比较有较大差异的样品,如血浆,某些血液制品,许多中药注射剂。
- 3) 想在较高浓度状态下测定内毒素含量的样品。这是指有的样品在浓度较高状态时对 BET 的干扰较大,虽然可以通过稀释样品来达到消除干扰的目的,但同时也使得样品的内毒素含量稀释从而变得不可测,失去了定量检测的意义。
- 4) 需要较精确地测定内毒素含量的样品。

2. 同体系法适用于任何一种定量 BET 方法,如动态比浊法、动态比色法、终点比色法以及动态终点法等等。

---

(上接第 13 页)检测报告包括有相关系数,回收率,内毒素实测值等重要信息。该报告详细的表述了样品的内毒素检测信息。其中样品内毒素实测值表示的是未经稀释的样品内毒素含量,变异系数表示平行管之间的差异大小,回收率表示样品的干扰程度。中国药典 2000 年版规定,当样品回收率在 50%—200%之间时,可认为样品对鲎试验没有干扰。

“生物探针-2002”是世界上唯一具有动态终点法分析功能的内毒素检测软件。动态终点法具有终点法快速、精确的特点,又具有动态法的简单、方便,且比终点法和动态法更实用。动态终点法分析技术是湛江安度斯生物有限公司的专利技术之一。

“生物探针-2002”细菌内毒素检测软件能够显示鲎试剂与内毒素反应的全过程,能满足对细菌内毒素的常规检查、生产质控以及科学研究的需要。软件设计合理,操作方便,适用面广,既符合中国药典对细菌内毒素定量检查法的要求,也符合美国 FDA 对鲎试验相关管理条例的规定。该软件有中英文版本,自 2003 年推出以来,深受国内外用户的欢迎!

## 20 分钟 OK!

### ——介绍一种新的细菌内毒素快速检测试剂盒

湛江安度斯生物有限公司

曹福志

我们知道，现行的凝胶法鲎试验，是人为地固定反应时间为 60 分钟。中国药典 2000 年版细菌内毒素检查法规定：“取装有 0.1ml 鲎试剂溶液的 10mm × 75mm 试管，加入 0.1ml 供试品溶液或标准内毒素溶液，轻轻混匀后放入 37 ± 1℃ 恒温器中，保温 60 分钟 ± 2 分钟，将试管从恒温器中轻轻取出，缓慢倒转 180°，管内凝胶不变形，不从管壁滑脱者记为阳性 (+)，凝胶不能保持完整并从管壁滑脱者，记为阴性 (-)。”这就是常规的凝胶法细菌内毒素检查。

然而在生产实践中，尤其是在生产过程的质控中，往往希望能够迅速得知检测结果，以便能在生产过程动态地监控各工序半成品的内毒素水平。此时常规的凝胶法已不能满足生产实践的需要，因此寻求更快速的检测方法显得十分必要。

湛江安度斯生物有限公司开发了一种新产品——细菌内毒素快速检测试剂盒 (专利号 200410028071.9)，使用这种快速检测试剂盒做细菌内毒素检查，只需要 20 分钟。

#### 一、快速检测法的原理：

鲎试剂与内毒素反应有三个重要参数：鲎试剂的活性，内毒素浓度以及反应时间。鲎试剂的活性通常以标示灵敏度 ( $\lambda$ ) 表示，活性越高， $\lambda$  值越小。常规凝胶法是把反应时间 (T) 固定为 60 分钟，在此条件下，鲎试剂的活性越高 ( $\lambda$  值越小)，可检测到的内毒素浓度就越低。快速检测法是把内毒素浓度固定，在此条件下，鲎试剂活性越高，反应时间就越短。根据此原理，我们采用常规的高活性的鲎试剂 ( $\lambda \leq 0.06 \text{ EU/ml}$ )，把它用来检测浓度为  $\lambda_0$  的内毒素 ( $\lambda_0 > \lambda$ )，使得反应形成阳性凝胶的时间  $T_0$  小于常规的反应时间 T (60 分钟)。

#### 二、 $T_0$ 的确定：

要实现快速检测的方法，关键是在选定  $\lambda_0$  之后，如何来确定相应的反应时间  $T_0$ 。确定  $T_0$  的方法通常有两种：凝胶实验法及动态实验法。

##### 1、凝胶实验法

首先选定  $\lambda_0$ ，例如  $\lambda_0 = 0.25 \text{ EU/mL}$ ；稀释标准内毒素至  $2\lambda_0$ ， $\lambda_0$ ， $0.5\lambda_0$  及  $0.25\lambda_0$  系列浓度；取常规的标示灵敏度为  $\lambda$  ( $\lambda_0 > \lambda \leq 0.06 \text{ EU/mL}$ ) 的高活性鲎试剂与该系列内毒素反应，反应设多组平行。当反应进行到  $T_1$ ， $T_2$ ， $T_3 \dots$  时 ( $T_1$ ， $T_2$ ， $T_3 \dots < 60$  分钟)，分别取一平行组观察反应结果。当出现下述反应结果时所对应的反应时间即为  $T_0$ ：

标准内毒素浓度 (EU/mL):	$2\lambda_0$	$\lambda_0$	$0.5\lambda_0$	$0.25\lambda_0$
凝胶结果:	+++ +	+++ +	----	----

## 2、动态实验法

取常规高活性鲎试剂 ( $\lambda \leq 0.06 \text{ EU/mL}$ ), 与浓度为 0.5, 0.25, 0.125, 0.06, 0.03 EU/mL 标准内毒素溶液在动态浊度仪上反应, 动态反应曲线及凝胶结果见图 1。由图可见, 反应到达终点时间  $T$  时 (60 分钟), 透光率的最大变化值约为 40% (100% ~ 60%)。我们可以看到这样的规律, 即对于每一反应曲线, 如果它的透光率变化值大于最大变化值的 1/2 (即反应曲线终止在 80% 以下), 其凝胶状态为阳性 (+), 如图 1 中浓度为 0.5, 0.25, 0.125 及 0.06 EU/mL 的反应曲线; 否则凝胶状态为阴性 (-), 如图 1 中浓度为 0.03 EU/mL 的反应曲线。根据这一规律, 我们可以很容易地在图 1 中找出所选定的浓度为  $\lambda_0$  的内毒素所对应的  $T_0$  值。如选定  $\lambda_0 = 0.5 \text{ EU/mL}$ ,  $T_0$  即为图 1 中的  $T_{0.5}$ ; 如选定  $\lambda_0 = 0.25 \text{ EU/mL}$ ,  $T_0$  即为图 1 中的  $T_{0.25}$ , 等等。

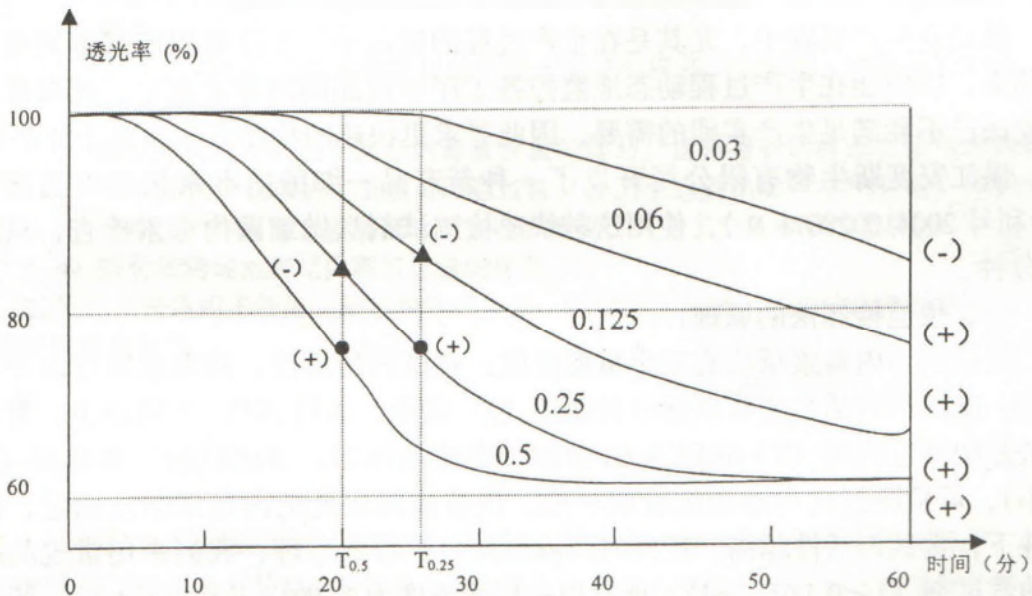


图 1

我们用凝胶法验证根据图 1 所确定的  $T_0$ , 结果见表 1。

表 1

常规法: $T = 60$ 分钟, $\lambda = 0.06 \text{ EU/mL}$ 鲎试剂批号: 0403222					
CSE 浓度 (EU/mL)	0.125	0.06	0.03	0.015	NC
反应结果	++++	++++	----	----	--
快速法: $T_0 = 20$ 分钟, $\lambda = 0.5 \text{ EU/mL}$ 鲎试剂批号: 0403222					
CSE 浓度 (EU/mL)	1.0	0.5	0.25	0.125	NC
反应结果	++++	++++	----	----	--

快速法: $T_0 = 25$ 分钟, $\lambda = 0.25\text{EU/mL}$ 鲎试剂批号: 0403222					
CSE 浓度 (EU/mL)	0.5	0.25	0.125	0.06	NC
反应结果	++++	++++	----	----	--

由上表 1 结果可见, 快速检测法可以将反应时间由常规凝胶法所需要的 60 分钟缩减至 20~25 分钟, 大大地提高了检测效率, 在很大程度上满足生产过程检测的需要。

### 三、内毒素快速检测盒的其它优点

#### 1、使用方便

快速检测盒内配置与国际使用接轨的单个试验鲎试剂 (TAL)。使用这种单个试验 TAL 时, 直接加 0.2ml 样品复溶试剂兼检测, 不必像使用 0.1ml/支 TAL 那样要先加 0.1ml 的水复溶试剂, 然后再加 0.1ml 样品检测。

#### 2、同一试剂盒有多种灵敏度选择

根据图 1 的原理, 我们在每一批号的快速检测试剂盒上都标示有至少两个可供选择的灵敏度。使用时选择不同的灵敏度 ( $\lambda_0$ ) 对应有不同的反应时间 ( $T_0$ )。如批号为 0409082 的快速检测试剂盒, 灵敏度标示如下:

$\lambda_0$	$T_0$
0.25EU/mL	20 ± 1 分钟
0.125EU/ml	25 ± 1 分钟

#### 3、CSE 无需稀释

我们知道, 在细菌内毒素检查过程中, 最繁琐耗时的操作就是稀释标准内毒素 (CSE)。快速检测试剂盒配备了无需稀释的一步到位的 CSE, 使实验真正快速方便!

#### 4、配套器具, 如虎添翼

在使用快速检测试剂盒时, 如果配合使用安度斯公司提供的可调移液器、采样瓶、可定时的干式恒温仪等实验器具, 可真正体会到 BET 实验的快速、准确及方便。

# 光度测定法介绍 (1)

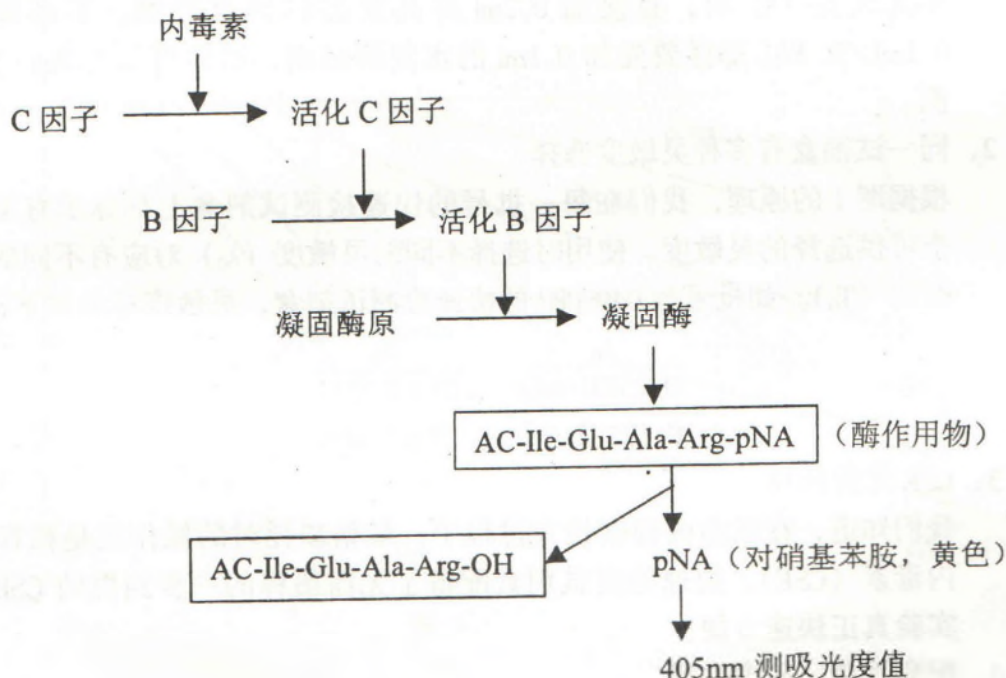
## ——终点显色法及其试剂盒

湛江安度斯生物有限公司 冯聚锦

终点显色法 (Endpoint Chromogenic Analysis, ECA) 又称终点显色基质法或终点比色法, 属光度测定法之一种。《中国药典》2005 年版附录 XIE 细菌内毒素检查法已收载终点显色法作为细菌内毒素检查的方法之一。

### 一、终点显色法的原理

终点显色法鲎试剂检测内毒素的机理如下图所示:



实验原理: 在一定的时间内, 一定量的内毒素激活鲎试剂发生多级酶促反应, 导致相应量的凝固酶生成; 然后加入一种人工合成的酶作用物 (又称为显色基质或底物); 凝固酶水解显色基质, 使其释放出显色基团 pNA (对硝基苯胺); pNA 在溶液中呈黄色, 用分光光度计或酶标仪在 405nm 处测定溶液的吸光度值; 内毒素的量与吸光度值呈正相关关系。实验时先用鲎试剂与已知浓度的标准内毒素 (至少三个浓度) 反应, 得到相应的吸光度值; 用标准内毒素的浓度与相应的吸光度值作回归分析, 建立标准曲线; 用该标准曲线去测读鲎试剂与供试品反应得到的吸光度值, 从而计算出供试品的内毒素含量。



## 二、终点显色法的实验条件

采用终点显色法检查细菌内毒素需要具备如下的实验条件：

### 1. 终点显色法试剂盒

终点显色法试剂盒一般包括如下试剂：

- 1) 终点显色法鲎试剂
- 2) 显色基质
- 3) 反应终止液
- 4) 鲎试剂复溶液 (BET 水)

### 2. 光度仪

用作测定吸光度值 (OD 值) 的仪器有如下两种：

#### 1) 分光光度计

使用具有 405nm 波长的分光光度计可测定黄色溶液的吸光度值。但使用分光光度计必须把每一反应试管中的待测溶液逐一地加到比色皿中去测量，操作十分麻烦，已经很少有用户使用分光光度计来作终点显色法检查。

#### 2) 平板酶标仪

此仪器一般使用一块有 96 个凹孔的塑料透明平板 (俗称酶标板) 作反应载体，反应完毕后，把平板放入酶标仪中，设定 405nm 波长，只需 10 秒左右就可把 96 个孔 (相当于 96 支反应试管) 的溶液吸光度值测完。酶标仪是终点显色法检查所使用的主要仪器。

### 3. 反应载体

如果使用分光光度计测定吸光度值，一般使用无热原的玻璃试管作反应容器。如果使用酶标仪测吸光度值，只能使用无热原的微孔平板作反应容器。标准的微孔平板为 96 孔，也有 48 或 24 孔的非标准微孔平板。

4. 如果采用玻璃试管，需要使用 37℃ 的恒温水浴箱或干式试管恒温仪。如果采用微孔平板，需要使用专用的微孔平板恒温器。

### 5. 内毒素工作标准品 (CSE)

采用终点显色法检查细菌内毒素，必须使用以内毒素国家标准品经终点显色法标定效价的内毒素工作标准品。不能把用于凝胶法检查的工作内毒素用来作终点显色法检查。

作为终点显色法试剂盒的供应商，应该能够为用户提供进行终点显色法实验所需的全套实验用品及仪器。

## 三、终点显色法的实验方法

以下以使用 96 孔微孔平板及酶标仪为例，介绍终点显色法实验的方法。

### 1. 开启微孔平板恒温器预热；

2. 制备标准内毒素系列：通常是 1.0, 0.5, 0.25, 0.125 EU/mL 或 0.12, 0.06, 0.03, 0.015 EU/mL;
3. 制备供试品及阳性供试品对照 (PPC);
4. 取 96 孔微孔平板一块, 放在 37℃ 恒温器上; 每孔加 0.05ml 标准内毒素或供试品或 PPC 或 BET 水 (阴性对照), 平行 2 孔。加样完毕后恒温孵育 5 分钟;
5. 用 BET 水复溶鲎试剂及显色基质;
6. 每孔加入 0.05ml 鲎试剂, 然后 37℃ 恒温反应 5 分钟;
7. 每孔加入 0.1ml 显色基质溶液, 37℃ 恒温反应 5 分钟;
8. 每孔加入 0.1ml 反应终止液;
9. 把微孔平板放入酶标仪中用 405nm 波长测吸光度值。可以在终止反应后马上测吸光度值, 也可以在 24 小时内测定;
10. 用吸光度值数据与标准内毒素浓度数据作回归分析, 建立标准曲线, 然后计算供试品的内毒素含量及回收率。数据处理及计算都可由电脑软件自动完成;
11. 还有孔未用完的微孔平板可放入 2 - 8℃ 冰箱保存, 以后继续使用, 直到用完才弃置。

#### 四、终点显色法与其它内毒素检查方法的比较

终点显色法与凝胶法以及动态浊度法的各项比较见下表。

检查方法 比较项	凝胶法	动态比浊法	终点显色法
检查结果表示	定性 ( $\geq$ 或 $<$ )	定量	定量
内毒素检测范围	$\geq$ 或 $<$ 限值	最大三个数量级, 如 0.01 ~ 10 EU/mL	一个数量级, 如 0.1 ~ 1 或 0.01 ~ 0.1 EU/mL
灵敏度	最高 0.015 EU/mL	最高 0.001EU/mL	最高 0.005EU/mL
反应所需时间	60 分钟	30 ~ 60 分钟	15 ~ 25 分钟
反应载体	10x75mm 玻璃试管	玻璃试管或微孔平板	玻璃试管或微孔平板
单次实验成本	最低	最高	比凝胶法略高
所需实验仪器投资	最低	最高	比凝胶法略高
实验功能	内毒素检查	内毒素检查及研究分析	内毒素检查及研究分析

注：湛江安度斯生物有限公司将于 2005 年第二季度推出终点显色法试剂盒及全套实验用品。

# 一种新的细菌内毒素定量检测专用软件

## ——“生物探针-2002”简介

湛江安度斯生物有限公司 熊向党

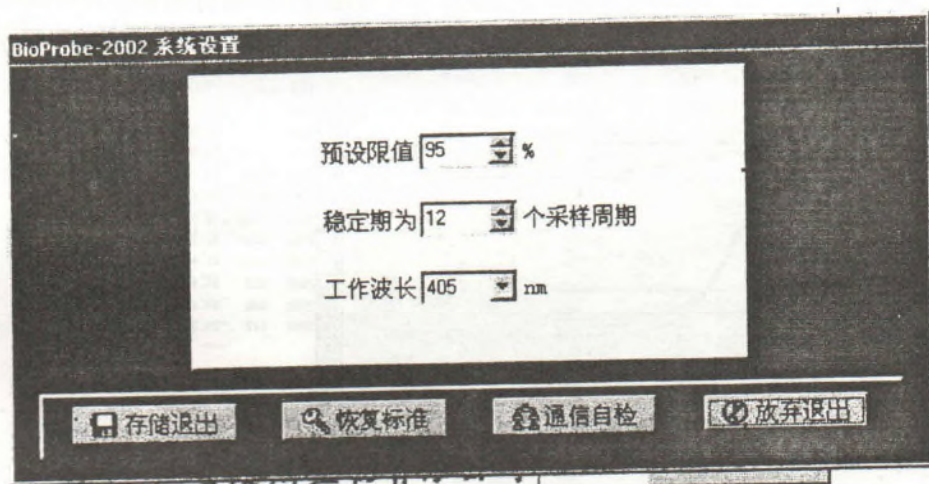
“生物探针-2002” (BioProbe-2002), 是湛江安度斯生物有限公司专为英国 ATi 系列动态试管仪设计的细菌内毒素定量测定软件, 它吸收了世界上同类软件的众多优点, 具备相当完善的功能, 可用于细菌内毒素的动态比浊法、动态比色法和动态终点法测定。

生物探针-2002 细菌内毒素定量测定软件接收并保存由动态试管仪按一定的频率采集的鲎反应试管的吸光度值, 根据不同分析方法, 选择不同的数据处理方式进行样品的细菌内毒素定量测定。

生物探针-2002 由三大功能块组成: 系统设置、数据采集及数据分析。系统设置功能包括实验参数的设定及仪器自检; 数据采集为实验数据采集、实验环境参数的设定及数据的保存; 数据分析完成对实验数据文件的数学分析。

系统设置中有光度预设限值、稳定期、工作波长等参数的设定。通信自检主要用来检测仪器的恒温性能以及各试管孔的光强度均一性。

BioProbe-2002 细菌内毒素测定系统



已注册

系统设置

数据采集功能分数据采集和动态曲线两部分。数据采集包括检测方法选择, 实验时间设定, 工作波长、采集间隔设置, 实验参数如鲎试剂、内毒素批号, 灵敏度, 检验员, 检测日期等设置。可根据仪器规格及实验需要选择工作波长, 如 405nm 或 660nm。

BioProbe-2002 数据采集

管号	试管名称	样品批号	稀释倍数	标准内毒素 Eu/ml
1	阴性对照			
2	阴性对照			
3	内毒素标准			2
4	内毒素标准			2
6	内毒素标准			0.25
6	内毒素标准			0.25
7	内毒素标准			0.03125
8	内毒素标准			0.03125
9	样品	02030215	8	
10	样品	02030215	8	
11	样品	02030215	8	0.25
12	样品	02030215	8	0.25
13				
14				
15				
16				

检测日期: 2004-8-30    量试剂批号: 0302150    内毒素批号: 2004-6    室温: 24 °C  
 检验员: Done    灵敏度: 0.06 Eu/ml    BET水批号: 0405210    反应器温度: 37.1 °C

动态法: 自动停止时间: 3600秒, 预设限值: 92%  
 终点法: 终点时间: 5 分钟

开始采集, 停止采集, 结束返回

数据采录 动态曲线

数据采集 (数据采集)

动态曲线部分显示反应过程中各孔的光度值随时间变化的动态曲线。界面显示还包括有反应时间，达限时间，透光度，内毒素实测值等信息。在作生产过程的质控检测时，如果调用预先储存的标准曲线，能在不停止反应的状态下即时得出样品内毒素含量的实测值，这对生产过程半成品的内毒素水平的监控非常有帮助。

BioProbe-2002 数据采集

管号	反应	达限	透光度	实测Eu/ml
1	2560	-	99.22	
2	2560	-	98.83	
3	2560	2249	89.06	0.0202
4	2560	2114	86.33	0.0244
5	2560	2144	86.67	0.0234
6	2560	1046	59.31	0.2137
7	2560	1020	62.91	0.2305
8	2560	1059	61.45	0.2056
9	2550	633	69.23	1.0038
10	2550	608	64.26	1.1374
11	2550	612	64.58	1.1126
12				
13				
14				
15				
16				

调用透光度参考标准曲线  
 浓度范围: 0.031~2.0Eu/ml  
 回归方程:  $LgY=2.8019-0.3246LgC$   
 相关系数:  $r=-0.9996$   
 预设限值: 92%  
 坐标类型: Y--LgY (分), X--LgC (Eu/ml)  
 标准曲线名称: Raw1\_21\_2005

数据采录 动态曲线

数据采集 (动态曲线)

数据分析功能由基本数据，动态曲线，检测报告及终点法分析四部分组成。

基本数据包括打开数据文件，存储标准曲线，合成标准曲线，调用标准曲线等，其中还包括打开的数据文件的标准曲线信息，如回归方式，回归方程，相关系数等。动态曲线中显示各孔标准内毒素（或供试品）与鲎试剂反应的光度随时间变化的动态曲线。各动态曲线都可随意显示（放大显示，缩小显示或删除，坐标调整等）。

BinProbe 2002 数据分析

【Raw6\_19\_2004】实验数据

管号	试管名称	标准内毒素 (Eu/ml)	预设限值(秒)
1	阴性对照	0.00	>3600
2	内毒素标准	2	468
3	内毒素标准	2	446
4	内毒素标准	0.25	888
5	内毒素标准	0.25	898
6	内毒素标准	0.03125	1828
7	内毒素标准	0.03125	2111
8	葡萄糖	0.25	934
9	葡萄糖	0.25	968
10	葡萄糖	0.00	>3600
11	葡萄糖	0.00	>3600

标准曲线

直接回归 平均回归

浓度范围: 0.03125~2.0 Eu/ml  
 回归方程:  $LgTg=2.7569-0.3513LgC$   
 相关系数:  $r=-0.9989$   
 预设限值: 92%  
 坐标类型: Y-LgTg (分)  
 X-LgC (Eu/ml)  
 回归类型: 平均回归

打开数据文件 存储标准曲线 合成标准曲线 调用标准曲线 返回

基本数据 动态曲线 检测报告 终点法分析

数据分析 (基本数据)

BinProbe 2002 数据分析

【Raw030619\_10】检测报告 回归方程  $LgTg=2.7212-0.3377LgC$  相关系数  $-0.9991$  预设限值  $92\%$  工作波长  $405nm$

检验日期 2003-6-19 检验员 Dane 试剂批号 0205152 试剂灵敏度

反应温度 36.9 BET水批号 0301220 标准内毒素批号 2002-12 室温 26

管号	试管名称	样品批号	标准内毒素		回收率%	T52 (秒)	内毒素实测值		SD	CV%
			管数	(Eu/ml)			(Eu/ml)			
1	阴性对照				>3600	0.0034	0.000	0.000		
2	阴性对照				>3600	0.0034	0.000	0.000		
3	内毒素标准		2		428	1.8971	5.657	1.334		
4	内毒素标准		2		420	1.8971				
5	内毒素标准		0.25		812	0.2779	1.414	0.174		
6	内毒素标准		0.25		810	0.2779				
7	内毒素标准		0.03		1739	0.0285	16.263	0.929		
8	内毒素标准		0.03		1762	0.0285				
9	样品	021202	160		>3380	0.6492	0.000	0.000		
10	样品	021202	160		>3380	0.6492				
11	样品	021202	160	0.25	161.47	711	65.2366	2.121	0.298	
12	样品	021202	160	0.25	161.47	714	65.2366			
13	样品	021201	160		>3360	0.6607	0.000	0.000		
14	样品	021201	160		>3360	0.6607				
15	样品	021201	160	0.25	144.75	743	58.5588	5.657	0.765	
16	样品	021201	160	0.25	144.75	735	58.5588			

打印比例  $100\%$  打印 辅助计算 返回

基本数据 动态曲线 检测报告 终点法分析

数据分析 (检测报告) (下转第 4 页)

# 你还在使用恒温水浴箱吗?!

## ——推荐一种新型试管恒温仪

湛江安度斯生物有限公司 张永坚

10年前我曾在美国 ENDOSAFE 公司接受 BET 技术培训。我至今仍清楚记得当时我做灵敏度验证实验时在实验室里转来转去找恒温水浴箱的情形，后来还是培训经理珍妮女士告诉我超净台旁边那个“带盖的白色小盒子”就是用来作试管恒温的。这是我第一次接触到干式试管恒温仪。在以后的培训课程以及实验中，不断有新的技术和方法吸引着我，使自己在细菌内毒素检查及鲎试剂的应用技术上有极大的提高。回国后多年，我在 BET 实验中念念不忘的还是那个“带盖的白色小盒子”！它比传统的恒温水浴箱有太多的优点，如干式加热、温控稳定、自动计时等等，但由于受到当时药典 BET 检查法的影响，我们在日常的 BET 实验中还是在使用恒温水浴箱。

《中国药典》2000 年版对细菌内毒素检查法作了修改，其中关于反应试管的孵育由原来的“垂直放入  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  水浴中，保温  $60 \pm 2$  分钟”改为“垂直放入  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  恒温器中，保温  $60 \pm 2$  分钟”。这一修订为我们使用干式试管恒温仪提供了法规依据。当时国内还没有厂家生产这类仪器，我们只能向国外购买。当打开包装箱取出那个“带盖的白色小盒子”时，我有一种老朋友久别重逢的感觉。

2003 年湛江安度斯生物有限公司成功研制开发了一种专用于凝胶法细菌内毒素检查的实验设备——TAL-40 型试管恒温仪。与传统使用的恒温水浴箱比较，TAL-40 型试管恒温仪有许多的优点：

1. 试管恒温仪的加热传导载体为高密度铝合金挤压成型，具有热容量大，热阻及热惯性小，加热迅速均匀的特点，是精密温控的理想材料。由于实现了干式恒温，试管底部无粘挂水珠，更便于观测凝胶形态及判断结果。
2. 仪器采用先进的薄膜加热及脉冲控温技术，使温度极为稳定均匀，温控精度达到  $37 \pm 0.2^\circ\text{C}$ ，试管孔间温差  $\leq 0.1^\circ\text{C}$ 。传统的恒温水浴箱的温控精度只有  $\pm 1^\circ\text{C}$  甚至更大；箱内温度场不均匀，靠近发热管的位置水温高，偏离发热管的位置水温低；受调温继电器的影响，温度设定不好控制，要么偏高要么偏低。这些缺点很容易造成鲎试剂反应的差异。
3. C、D 型试管恒温仪有三只独立的计时/定时器，可根据实验需要在 0~99 分钟内任意设定时间，到时有蜂鸣音提示。反应时间由时间显示屏显示，计时精度达到 60 分钟  $\pm 10$  秒，大大高于检查法要求的  $60 \pm 2$  分钟的精度。
4. 试管恒温仪设有温度显示屏，精确显示仪器的温度状况。用户可根据需要在  $36 \sim 38^\circ\text{C}$  范围内调校及设置仪器的恒温温度。仪器有超温报警及自动切断电源功能。仪器属节能产品，最大功率 215W，工作状态能耗小于 15W。实验前只需提前 15~20 分钟开启仪器预热。
5. 仪器装有独特的遮光防尘盖，使用时反应试管免封口，使实验操作更方便

快捷。如果使用传统的恒温水浴箱，反应试管必须封口，否则水蒸汽或小水珠会进入试管内造成污染。给每支反应试管一一封口，既麻烦费时，又影响实验精度。

6. 每台仪器有 40 只试管孔。A 及 D 型仪器使用 2ml 安瓿作反应试管；B 及 C 型使用 10 × 75mm 标准试管。

TAL-40 型试管恒温仪的技术参数完全符合中国药典细菌内毒素检查法的要求，每台仪器都附有厂家的验证方法及验证报告，符合 GMP 管理规范。仪器外型美观，体积小巧，适合放置于实验室任何位置。与恒温水浴箱比较，试管恒温仪价廉物美，非常适合国内 BET 用户的需要。你们也可以和我一起享受这个“带盖白色小盒子”给我们实验带来的便利了！

试管恒温仪特点：

- 升温快速敏捷，温控精度高；
- 孔间差异小，中心孔与边角孔温差  $\leq 0.1^{\circ}\text{C}$ ；
- 独立的 3 档 0 ~ 90 分钟定时设置及蜂鸣提示；
- 温度显示及时间显示；
- 超温故障自动断电保护及报警；
- 遮光防尘罩，试管免封口；
- 体积轻巧，性能稳定可靠。

技术参数：

- 恒定温度： $37 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$
- 时间控制：A、B 型 60 分钟定时，C、D 型 0 ~ 90 分钟定时，精度 60 分钟  $\pm 10$  秒
- 试管孔数：40 孔
- 试管尺寸：2ml 安瓿（A 及 D 型）或 10 × 7mm 标准试管（B 及 C 型）
- 工作电压：AC 220V ~ 240V，50/60HZ
- 最大功率：215W
- 重量：4.0KG（A 及 D 型）/ 3.5KG（B 及 C 型）
- 体积：267（长）× 185（宽）× 120（高）mm

## 《中国药典》2005年版细菌内毒素检查法辅导 暨细菌内毒素检测新技术学习班通知

2005年版《中国药典》将于今年7月1日起正式实施。为了配合新版药典细菌内毒素检查法的实施,以及介绍近年来细菌内毒素检测领域的技术进步,湛江安度斯生物有限公司拟举办新版药典细菌内毒素检查法辅导暨细菌内毒素检测新技术学习班。现将该学习班的有关事项通知如下:

### 一、学习内容

1. 2005年版《中国药典》细菌内毒素检查法辅导
  - 1) 2000/2005年版药典细菌内毒素检查法比较
  - 2) 中美两国药典细菌内毒素检查法比较
  - 3) 05年版药典细菌内毒素检查法辅导
2. 新技术讲座
  - 1) 一种有效消除样品干扰的新方法——同体系模型法
  - 2) 一种新的定量检查方法——动态终点法
  - 3) 一种新的热原检查方法——体外热原检查法
3. 新软件介绍——生物探针 2002 细菌内毒素定量测定系统
4. 新仪器介绍
  - 1) 便携式内毒素快速定量检测仪及实验演示
  - 2) ATi-320型动态试管仪及实验演示
  - 3) 新型干式试管恒温仪及实验演示
5. 新产品介绍
  - 1) 终点显色法试剂盒及实验演示
  - 2) 细菌内毒素快速检测试剂盒及实验演示
  - 3) 定量标准内毒素套餐及实验演示

### 二、时间及地点安排

本学习班定于2005年4月~6月在全国各地分期陆续举办,欲了解每期学习班的具体时间及地点者,请向我公司或我公司驻各地办事处咨询。为便于安排,欲参加学习班者请填写本通知所附之回执,提前将回执寄回我公司。传真、电子邮件或电话报名均有效。

### 三、其它事项

1. 本次学习班收取学员资料费及会务费每人50元,报到时缴交。
2. 学员的食宿费用自理。
3. 报名联系人:杨宝霞 通讯地址:广东省湛江市人民大道中38号(邮编524022)  
传真:0759-3391072, 电话:0759-3380617, 手机013702730596  
Email: [zacb@pub.zhanjiang.gd.cn](mailto:zacb@pub.zhanjiang.gd.cn)

湛江安度斯生物有限公司

2005年2月28日

## 2005年版中国药典细菌内 毒素检查法辅导学习班报名回执

单 位				电 话	
地 址				邮 编	
姓 名	性 别	职 务/职 称	工 作 部 门		