

# 对临床细菌内毒素检测中血清样本处理方法的比较研究

陈晓佳\* 李红玲 林巧辉 丁友玲\*\*

(福州新北生化工业有限公司 福州 350101)

**摘要** 目的：对应用细菌内毒素检测试剂盒（终点显色基质法）（以下简称“试剂盒”）检测细菌内毒素中的不同血清样本处理方法进行比较。方法：在10名健康志愿者的血清中外加细菌内毒素，然后分别采用高氯酸法、新高氯酸法、碱试剂法和高温稀释法进行处理，最后用试剂盒检测，计算细菌内毒素回收率并进行统计学分析。结果：4种血清样本处理方法的细菌内毒素回收率均在一般鲎试验检测法要求的范围内（50%~200%），但它们在同种外加细菌内毒素浓度下的回收率间均存在显著差异（均 $P < 0.001$ ）。对含不同外加细菌内毒素浓度的血清样本，除碱试剂法的回收率间没有显著差异外，其余3种处理方法的回收率间也均存在显著差异（均 $P < 0.001$ ）。结论：对试剂盒检测，选用碱试剂法处理血清样本的细菌内毒素回收率更适宜且稳定性更好，检测细菌内毒素的准确性更高。碱试剂法应用作试剂盒检测的首选血清样本处理方法。

**关键词** 细菌内毒素 终点显色基质法 鲎试剂 血清处理方法 回收率

中图分类号：R446.112

文献标志码：A

文章编号：1006-1533(2018)21-0007-05

## Study on the methods for the treatment of serum sample in clinical bacterial endotoxin test

CHEN Xiaojia\*, LI Hongling, LIN Qiaohui, DING Youling\*\*

(Fuzhou Xinbei Biochemical Industrial Co., Ltd., Fuzhou 350101, China)

**ABSTRACT Objective:** To evaluate the different methods for the treatment of serum samples with clinical bacterial endotoxin test kit (end-point chromogenic method) (hereinafter referred to as “test kit”). **Methods:** Endotoxin was added into the serum samples from ten healthy people and then the samples were treated by different methods such as perchloric acid and its improved type, alkali reagent and high-temperature dilution, respectively. The recovery of endotoxin was calculated and statistically analyzed after determination with the test kit. **Results:** The spike recovery of endotoxin in the samples treated with different methods were within the range required by the general limulus test method (50%-200%). However, there were significant differences in the spike recoveries when the same concentrations of spiked endotoxin were added into the samples treated by different methods ( $P < 0.001$ ). There were also significant differences in the spike recoveries when different concentrations of spiked endotoxin were added into the samples treated with the methods other than alkali reagent ( $P < 0.001$ ). **Conclusion:** The spike recovery of endotoxin is accuracy and consistency in the samples treated with alkali reagent, which can be considered as the first choice method for serum sample treatment with the test kit.

**KEY WORDS** bacterial endotoxin; end-point chromogenic; *Tachypleus* amebocyte lysate; serum treatment method; spike recovery

细菌内毒素是革兰阴性菌细胞壁脂多糖组分，是革兰阴性菌感染的重要临床监测指标。鲎试验从20世纪

\* 作者简介：陈晓佳，工程师，主要从事细菌内毒素检测研究

\*\* 通信作者：丁友玲，高级工程师，主要从事细菌内毒素检测等临床诊断试剂的研究。E-mail: xb838888@163.com

90年代开始即用于临床细菌内毒素检测<sup>[1]</sup>，其结果对革兰阴性菌感染诊断具有重要的临床指导意义<sup>[2-5]</sup>。鲎试验检测法已从早期的定性检测发展到定量检测，后者在方法学上还可分为终点显色基质法、动态浊度法和动态显色法，而在临床定量鲎试验检测试剂盒的应用中，血清（血浆）样本的预处理方法也可分为碱试剂法、高氯酸法、新高氯酸法和高温稀释法<sup>[6]</sup>，它们在临床上均有

所应用<sup>[7-8]</sup>。

细菌内毒素检测试剂盒(终点显色基质法)(以下简称“试剂盒”)的检测原理是:在鲎试剂中加入显色基质,利用鲎血变形细胞溶解物中的凝固酶原水解显色基质,释放出对硝基苯胺显色基团,反应液呈淡黄色,然后进行偶氮化反应,反应液转为玫瑰红色,最后于波长( $\lambda$ ) 545 nm 下测定其吸光度(OD)值,再根据标准曲线计算细菌内毒素含量<sup>[9]</sup>。临床上可应用试剂盒检测人血清样本中的细菌内毒素含量,以诊断革兰阴性菌感染疾病<sup>[10]</sup>。由于试剂盒检测的灵敏度高且可定量检测,现已在临床上得到广泛应用<sup>[11]</sup>。

试剂盒的主试剂是由鲎血变形细胞溶解物制成的鲎试剂,主要成分是多种丝氨酸蛋白酶的混合物。但人血清样本中含有许多蛋白酶、凝血因子和球蛋白等,它们会对鲎试剂与细菌内毒素的反应<sup>[12]</sup>产生干扰,从而影响检测结果的准确性。因此,在应用试剂盒检测前须先对人血清样本进行适当的处理。本研究采用4种血清样本处理方法分别处理含外加细菌内毒素的血清样本,然后用试剂盒的主试剂等进行血清细菌内毒素回收实验,计算细菌内毒素回收率,进而找到较为理想的血清样本处理方法,以确保试剂盒检测的准确性和稳定性。

## 1 材料与方法

### 1.1 血清样本

选用10名健康志愿者的血清样本。要求样本采集过程为无菌、无热原操作,并使用不加任何抗凝剂的无热原真空采血管。

### 1.2 试剂和仪器

试剂盒(福州新北生化工业有限公司,批号16080132,标准曲线为 $y = 1.6137x + 0.0692$ ,  $r = 0.99$ ,其中 $y$ 为酶标仪在 $\lambda = 545$  nm 下测得的血清样本的OD值, $x$ 为血清样本中的细菌内毒素含量);细菌内毒素国家标准品(中国食品药品检定研究院,批号200707,规格10 000 EU/支);0.74 mol/L 高氯酸溶液,0.48 mol/L NaOH 溶液,碱试剂(由0.08 mol/L NaOH 溶液、0.15 mol/L NaCl 溶液、0.03 mol/L 双甘氨酸溶液、0.03 mol/L 乙撑亚胺溶液、0.01 mol/L  $\text{CaCl}_2$  溶液、0.05 mol/L  $\text{MgCl}_2$  溶液、0.003 mol/L 曲拉通溶液和0.3 mol/L 聚戊二烯溶液组成),0.2 mol/L 氨丁三醇-HCl 缓冲液(pH = 6.0 和 8.0);细菌内毒素检查用水(福州新北生化工业有

限公司,批号160525,规格5 ml/支,细菌内毒素含量 $< 0.005$  EU/ml)。

SM800 型酶标仪(上海永创医疗器械有限公司,配有 $\lambda = 545$  nm 的滤光片);I-MixHot 100 加热恒温混匀仪(上海永创医疗器械有限公司);800 型离心机(上海医疗器械厂)。

所有与实验直接接触的器具均经无菌、无热原处理。

## 2 实验及结果

### 2.1 血清样本的准备

用无热原、无抗凝剂的采血管采集10名健康志愿者的静脉血,采集量为每人4管、每管约4 ml。将采得的静脉血于采集后0.5 h 内用800 型离心机在转速为3 000 r/min 下离心处理5 min,取上层血清。将每管血清分装成4管,每管90  $\mu\text{l}$ ,并编为一组。血清样本应于4 h 内使用,否则必须在2~8  $^{\circ}\text{C}$  下保存以备72 h 内使用,或在 $< -20$   $^{\circ}\text{C}$  下冷冻保存以备6个月内使用。

### 2.2 在血清样本中外加细菌内毒素

对每组血清样本(4管,每管90  $\mu\text{l}$ ),一管中加入10 EU/ml 的细菌内毒素国家标准品溶液10  $\mu\text{l}$ ,细菌内毒素最终浓度为1 EU/ml(血清①);一管中加入5 EU/ml 的细菌内毒素国家标准品溶液10  $\mu\text{l}$ ,细菌内毒素最终浓度为0.5 EU/ml(血清②);一管中加入2.5 EU/ml 的细菌内毒素国家标准品溶液10  $\mu\text{l}$ ,细菌内毒素最终浓度为0.25 EU/ml(血清③);一管中加入细菌内毒素检查用水10  $\mu\text{l}$ ,用作空白对照(血清④)。

### 2.3 含外加细菌内毒素血清样本的处理

#### 2.3.1 高氯酸法

取血清④、血清①、血清②或血清③50  $\mu\text{l}$  至无热原空安瓿中,然后加入0.74 mol/L 高氯酸溶液200  $\mu\text{l}$ ,置加热恒温混匀仪上于37  $^{\circ}\text{C}$  恒温处理20 min 后,用800 型离心机在转速为3 000 r/min 下离心处理10 min,再加入0.48 mol/L NaOH 溶液250  $\mu\text{l}$ 。取50  $\mu\text{l}$  上清液至无热原空安瓿中,加入50  $\mu\text{l}$  试剂盒主试剂,分为2支平行安瓿后置加热恒温混匀仪上于37  $^{\circ}\text{C}$  恒温处理30 min,然后进行偶氮化反应。用酶标仪测定 $\lambda = 545$  nm 下的OD值,取2支平行安瓿的平均值计算细菌内毒素含量(注:被测样本已自原液稀释10倍)及回收率。

### 2.3.2 新高氯酸法

取血清○、血清①、血清②或血清③ 50 μl 至无热原空安瓿中，然后加入 0.48 mol/L NaOH 溶液 100 μl，置加热恒温混匀仪上于 37 °C 恒温处理 5 min；加入 0.74 mol/L 高氯酸溶液 100 μl，置加热恒温混匀仪上于 37 °C 恒温处理 10 min；加入 0.48 mol/L NaOH 溶液 100 μl，再加入 0.2 mol/L 氨丁三醇-HCl 缓冲液 (pH = 8.0) 150 μl，用 800 型离心机在转速为 3 000 r/min 下离心处理 10 min。取 50 μl 上清液至无热原空安瓿中，加入 50 μl 试剂盒主试剂，分为 2 支平行安瓿后置加热恒温混匀仪上于 37 °C 恒温处理 30 min，然后进行偶氮化反应。用酶标仪测定 λ = 545 nm 下的 OD 值，取 2 支平行安瓿的平均值计算细菌内毒素含量（注：被测样本已自原液稀释 10 倍）及回收率。

### 2.3.3 碱试剂法

取血清○、血清①、血清②或血清③ 50 μl 至无热原空安瓿中，然后加入碱试剂 200 μl，置加热恒温混匀仪上于 37 °C 恒温处理 10 min，再加入 0.2 mol/L 氨丁三醇-HCl 缓冲液 (pH = 6.0) 250 μl。取 50 μl 混合液至无热原空安瓿中，加入 50 μl 试剂盒主试剂，分为 2 支平行安瓿后置加热恒温混匀仪上于 37 °C 恒温处理 30 min，

然后进行偶氮化反应。用酶标仪测定 λ = 545 nm 下的 OD 值，取 2 支平行安瓿的平均值计算细菌内毒素含量（注：被测样本已自原液稀释 10 倍）及回收率。

### 2.3.4 高温稀释法

取血清○、血清①、血清②或血清③ 100 μl 至无热原空安瓿中，然后加入细菌内毒素检查用水 900 μl，置加热恒温混匀仪上于 75 °C 恒温处理 10 min。取 50 μl 混合液至无热原空安瓿中，加入 50 μl 试剂盒主试剂，分为 2 支平行安瓿后置加热恒温混匀仪上于 37 °C 恒温处理 30 min，然后进行偶氮化反应。用酶标仪测定 λ = 545 nm 下的 OD 值，取 2 支平行安瓿的平均值计算细菌内毒素含量（注：被测样本已自原液稀释 10 倍）及回收率。

## 2.4 结果

### 2.4.1 4 种含外加细菌内毒素血清样本处理方法的回收率

在 10 名健康志愿者的血清中外加不同浓度的细菌内毒素，然后分别采用 4 种血清样本处理方法进行处理，最后经与试剂盒主试剂等反应后测定 OD 值，根据标准曲线计算细菌内毒素的含量及回收率，再统计回收率的平均值和标准方差（表 1）。

表1 4种含细菌内毒素血清样本处理方法的回收率

血清样本 处理方法	空白对照		外加细菌内毒素 浓度为 1 EU/ml			外加细菌内毒素 浓度为 0.5 EU/ml			外加细菌内毒素 浓度为 0.25 EU/ml		
	OD 值	细菌内毒素 含量 / (EU·ml <sup>-1</sup> )	OD 值	细菌内毒素 含量 / (EU·ml <sup>-1</sup> )	回收 率 /%	OD 值	细菌内毒素 含量 / (EU·ml <sup>-1</sup> )	回收 率 /%	OD 值	细菌内毒素 含量 / (EU·ml <sup>-1</sup> )	回收 率 /%
高氯酸法 (n=10)	0.091± 0.001	0.138± 0.008	0.207± 0.001	0.853± 0.009	71.8± 0.9	0.144± 0.001	0.460± 0.006	65.4± 2.0	0.114± 0.001	0.275± 0.007	56.0± 4.7
新高氯酸法 (n=10)	0.092± 0.001	0.141± 0.008	0.224± 0.001	0.961± 0.006	82.0± 1.0	0.153± 0.001	0.518± 0.008	75.4± 2.6	0.118± 0.001	0.306± 0.007	65.9± 4.8
碱试剂法 (n=10)	0.095± 0.001	0.160± 0.007	0.260± 0.001	1.183± 0.008	102.3± 0.9	0.175± 0.001	0.665± 0.006	101.0± 1.8	0.137± 0.001	0.417± 0.007	103.1± 4.0
高温稀释法 (n=10)	0.102± 0.001	0.202± 0.006	0.363± 0.004	1.819± 0.029	161.7± 3.34	0.223± 0.001	0.954± 0.008	150.3± 1.9	0.157± 0.001	0.546± 0.007	137.8± 3.36

### 2.4.2 含同种外加细菌内毒素浓度时 4 种不同血清样本处理方法的回收率比较

采用单因素方差分析 Tukey 法进行统计学分析，发

现在含同种外加细菌内毒素浓度时，4 种不同血清样本处理方法的回收率间均存在显著差异（均 P < 0.001，表 2）。

表2 含同种外加细菌内毒素浓度时4种不同血清样本处理方法的回收率比较/%

外加细菌内毒素浓度 / (EU·ml <sup>-1</sup> )	血清样本处理方法 (I)	血清样本处理方法 (J)	回收率平均差异 (I - J)	P 值	95% CI
1.0	高氯酸法	新高氯酸法	-10.100 00	< 0.001	-12.408 9, -7.791 1
		碱试剂法	-30.300 00	< 0.001	-32.608 9, -27.991 1
		高温稀释法	-89.700 00	< 0.001	-92.008 9, -87.391 1
	新高氯酸法	碱试剂法	-20.200 00	< 0.001	-22.508 9, -17.891 1
		高温稀释法	-79.600 00	< 0.001	-81.908 9, -77.291 1
		碱试剂法	-59.400 00	< 0.001	-61.708 9, -57.091 1
0.5	高氯酸法	新高氯酸法	-10.300 00	< 0.001	-13.021 3, -7.578 7
		碱试剂法	-36.000 00	< 0.001	-38.721 3, -33.278 7
		高温稀释法	-85.100 00	< 0.001	-87.821 3, -82.378 7
	新高氯酸法	碱试剂法	-25.700 00	< 0.001	-28.421 3, -22.978 7
		高温稀释法	-74.800 00	< 0.001	-77.521 3, -72.078 7
		碱试剂法	-49.100 00	< 0.001	-51.821 3, -46.378 7
0.25	高氯酸法	新高氯酸法	-9.700 00	< 0.001	-15.408 6, -3.991 4
		碱试剂法	-47.300 00	< 0.001	-53.008 6, -41.591 4
		高温稀释法	-81.700 00	< 0.001	-87.408 6, -75.991 4
	新高氯酸法	碱试剂法	-37.600 00	< 0.001	-43.308 6, -31.891 4
		高温稀释法	-72.000 00	< 0.001	-77.708 6, -66.291 4
		碱试剂法	-34.400 00	< 0.001	-40.108 6, -28.691 4

2.4.3 含不同外加细菌内毒素浓度时同种血清样本处理方法的回收率比较

采用单因素方差分析 Tukey 法进行统计学分析, 发

现对含不同外加细菌内毒素浓度的血清样本, 除碱试剂法的回收率间没有显著差异外, 其余 3 种处理方法的回收率间均存在显著差异 (均  $P < / = 0.001$ , 表 3)。

表3 含不同外加细菌内毒素浓度时同种血清样本处理方法的回收率比较/%

血清样本处理方法	外加细菌内毒素浓度 / (EU·ml <sup>-1</sup> ) (I)	外加细菌内毒素浓度 / (EU·ml <sup>-1</sup> ) (J)	回收率平均差异 (I - J)	P 值	95% CI
高氯酸法	1.0	0.5	7.000 00	< 0.001	3.438 1, 10.561 9
		0.25	15.900 00	< 0.001	12.338 1, 19.461 9
		0.5	8.900 00	< 0.001	5.338 1, 12.461 9
新高氯酸法	1.0	0.5	6.800 00	0.001	2.710 2, 10.889 8
		0.25	16.300 00	< 0.001	12.210 2, 20.389 8
		0.5	9.500 00	< 0.001	5.410 2, 13.589 8
碱试剂法	1.0	0.5	1.300 00	0.789	-1.601 9, 4.201 9
		0.25	-1.100 00	1.000	-4.001 9, 1.801 9
		0.5	-2.400 00	0.133	-5.301 9, 0.501 9
高温稀释法	1.0	0.5	11.600 00	< 0.001	8.040 1, 15.159 9
		0.25	23.900 00	< 0.001	20.340 1, 27.459 9
		0.5	12.300 00	< 0.001	8.740 1, 15.859 9

3 讨论

感染性疾病是一类临床常见疾病, 主要包括革兰阴性菌感染、革兰阳性菌感染、真菌感染、病毒感染和寄

生虫感染等。我国每年的感染性疾病患者数达 2 亿人次, 其中革兰阴性菌感染占比较大。革兰阴性菌细胞壁的主要组分为脂多糖, 即细菌内毒素, 在大部分革兰阴性菌

感染患者的血液中均可检出细菌内毒素。

细菌内毒素除引起发热外,还可引起血管扩张、血管通透性增加、中性粒细胞增多和血压下降等,细菌内毒素血症则可引起机体微循环障碍、急性肺损伤、急性呼吸窘迫综合征、弥散性血管内凝血、休克和全身炎症反应综合征等<sup>[13]</sup>,其中全身炎症反应综合征尚可能诱发多脏器功能障碍综合征和多脏器功能衰竭,也易导致继发性感染发生,从而加重患者的病情。人感染革兰阴性菌后,其血液中往往可检出有一定含量的细菌内毒素。根据血液中细菌内毒素的含量可间接判断是否为革兰阴性菌感染,尤其有利于革兰阴性菌感染的早期诊断。目前,血细菌培养和鉴定是菌血症病原诊断学的“金标准”,但通常需3d(对少数病原菌甚至需更长时间)才能获得结果,而细菌内毒素检测具有快捷、更易操作的优势,在样本送检数小时后即可获得检测结果,进而帮助早期诊断和正确治疗革兰阴性菌感染<sup>[14]</sup>。细菌内毒素检测对临床诊治革兰阴性菌感染具有重要意义<sup>[15]</sup>。

人血清中含有许多蛋白酶、凝血因子和球蛋白等,它们会对鲎试剂与细菌内毒素的反应产生干扰,从而影响检测结果的准确性。因此,在用试剂盒检测细菌内毒素前须先对人血清样本进行适当的处理。从本研究结果可以看出,4种血清样本处理方法的细菌内毒素回收率间均存在显著差异(均 $P < 0.001$ )。其中,高氯酸法的细菌内毒素回收率为56%~72%,新高氯酸法的细菌内毒素回收率为65%~82%,它们虽均符合一般鲎试验检测法对回收率的要求(50%~200%)<sup>[16]</sup>,但数值偏低,这是由于强酸处理会不同程度地破坏细菌内毒素的化学结构<sup>[17]</sup>,从而降低细菌内毒素回收率。此外,高氯酸法和新高氯酸法在3种不同外加细菌内毒素浓度下的细菌内毒素回收率间也均存在显著差异(均 $P < 0.001$ )。

高温稀释法的细菌内毒素回收率为138%~162%,数值偏高,这是由于高温处理会使血清中的蛋白质变性凝固,后者引起的白浊现象对酶标仪的光学测量有干扰,致使计算得到的细菌内毒素回收率偏高,用于试剂盒检测时的假阳性率也较高。高温稀释法在3种不同外加细菌内毒素浓度下的细菌内毒素回收率间也均存在显著差异(均 $P < 0.001$ )。

碱试剂法的细菌内毒素回收率为101%~103%,数值较理想,这主要是由于碱试剂能有效去除血清中含有的蛋白酶、凝血因子和球蛋白等,最大程度地减少这些物质对试剂盒检测的干扰,大大提高了鲎试剂的抗干扰能力。此外,碱试剂法在3种不同外加细菌内毒素浓度

下的细菌内毒素回收率间均没有显著差异,方法的稳定性和一致性令人满意。

总之,碱试剂法的细菌内毒素回收率处于最佳范围,其他3种血清样本处理方法的细菌内毒素回收率则偏低或偏高,容易导致试剂盒检测出现假阳性或假阴性、重复性差等问题。因此,在进行试剂盒检测时,应首选碱试剂法作为血清样本的处理方法。

#### 参考文献

- [1] 裴宇盛,蔡彤,高华.细菌内毒素检查新方法进展[J].药物分析杂志,2014,34(3):392-395.
- [2] 朱金林,陈信良.乙肝肝硬化合并自发性细菌性腹膜炎患者血清内毒素、降钙素原水平及其临床价值[J].西南军医,2017,19(1):10-12.
- [3] 虞艳琦,陆锐明,宁俭,等.对急性胰腺炎患者进行C-反应蛋白、血清降钙素原及内毒素检测的价值研究[J].当代医药论丛,2017,15(6):41-42.
- [4] 黄贤贵,杨彤,余洪立,等.儿童革兰阴性杆菌脑膜炎脑脊液细菌内毒素测定临床价值研究[J].中国实用儿科杂志,2015,30(7):547-549.
- [5] 庞伟,张晓伟.降钙素原、内毒素检测和G试验在ICU感染性发热患者监测中的临床意义[J].实用检验医师杂志,2016,8(3):133-137.
- [6] 稻田捷也.リムルス試薬を用いた血中エンドトキシンおよびβ-グルカン定量におけるカイネティック法での特異反応と非特異反応の判別[J].医学と薬学,1999,42(5):885-897.
- [7] 廖招连,丁友铃.显色基质鲎试剂(MT-1型试剂盒)对动物血液3种前处理方法回收比较试验的研究[J].福建医药杂志,2005,27(4):119-121.
- [8] Wong J, Davies N, Jeraj H, et al. A comparative study of blood endotoxin detection in haemodialysis patients [J/OL]. J Inflamm (Lond), 2016, 13: 24 [2018-04-13]. doi: 10.1186/s12950-016-0132-5.
- [9] Takagi K, Moriya A, Tamura H, et al. Quantitative measurement of endotoxin in human blood using synthetic chromogenic substrate for horseshoe crab clotting enzyme: a comparison of methods of blood sampling and treatment [J]. Thromb Res, 1981, 23(1-2): 51-57.
- [10] Obayashi T, Tamura H, Tanaka S, et al. A new chromogenic endotoxin-specific assay using recombinant limulus coagulation enzymes and its clinical application [J]. Clin Chim Acta, 1985, 149(1): 55-65.
- [11] Tamura H, Tanaka S, Obayashi T, et al. A new sensitive method for determining endotoxin in whole blood [J]. Clin Chim Acta, 1991, 200(1): 35-42.
- [12] Levin J, Bang FB. Clottable protein in limulus: its localization

(下转第15页)

于阴性对照供试品的细菌内毒素检查结果均为阴性,表明浓度为 20 EU/ml 的细菌内毒素标准溶液内的细菌内毒素含量下降了 2 个数量级(吸附率达 99%),符合 2015 年版中国药典四部药用辅料“活性炭(供注射用)”中对其细菌内毒素吸附力的要求。

### 3 结语

本研究对活性炭(供注射用)吸附细菌内毒素的能力进行了评价,结果表明活性炭(供注射用)对鲎试剂无干扰作用,且其能吸附细菌内毒素,使浓度为 200 和 20 EU/ml 的细菌内毒素标准溶液内的细菌内毒素含量均下降 2 个数量级(吸附率达 99%),符合 2015 年版中国药典四部药用辅料“活性炭(供注射用)”中对其细菌内

毒素吸附力的要求。使用活性炭(供注射用)吸附细菌内毒素在注射剂生产中有一定的应用意义和价值。当然,在注射剂生产中应尽量不使用活性炭(供注射用),以防活性炭(供注射用)本身及其中的残留物影响注射剂的质量。但若注射剂中的细菌内毒素难以用其他方法除去时,使用活性炭(供注射用)吸附可能是一个选项。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 通则 1143 细菌内毒素检查法 [M]// 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 年版四部. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 154-157.
- [2] 国家药典委员会. 药用辅料活性炭(供注射用) [M]// 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 年版四部. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 541-542.

(收稿日期: 2018-05-04)

(上接第2页)

2000 年后,《中国药典》不断扩大鲎试剂检测药品的应用范围,但是许多药品中常常含有对鲎试剂干扰的物质。为了克服鲎试剂的旁路反应对多糖敏感容易产生假阳性的问题,2004 年新北经过刻苦攻关又成功研发了只对细菌内毒素敏感的 P 型抗干扰鲎试剂。

随着国内滥用抗生素状态的严重,以及免疫性缺陷疾病和脏器移植的患者数量增多,临床上急需特异性较强的细菌内毒素检测和真菌多糖检测的试剂盒。当时国内许多厂家急于将鲎试剂制备成试剂盒应用于临床,多使用原来第二代的比浊定量法鲎试剂配备试剂盒。但人血清中由于有许多蛋白或凝血因子,它们均会对鲎试验反应有干扰,而且病人的血清常伴有浊度或溶血,这些都会影响鲎试剂比浊定量法的判定。

丁友玲在日本留学时,师从国际研究鲎试剂顶级专家——日本九州大学岩永贞昭教授,他是第四代终点显色基质法的发明者。为了将最先进的研发成果转化为产品,丁友玲又一次站在攻关的风口浪尖上,她带领新北

研发团队并建立国家级院士工作站。她结合日本留学时学习的先进技术和中国的国情研发新产品,经过夜以继日的攻关,2006 年在国内研发成功了第四代终点显色法鲎试剂。同时为了生产出临床上符合率高、重现性好的试剂盒,必须对血清处理方法进行改进。又经过几年的研发,新北确立了(多)碱试剂法的血清处理方法,配套终点显色基质法将鲎试剂成功应用于临床。经过对照实验证明,这种试剂临床符合率和重现性都优于浊度法试剂盒,并克服了浊度法试剂盒经常在临床检测中出现假阳性的缺点。新北 2015 年获得了细菌内毒素检测试剂盒(终点显色法)和(1,3)- $\beta$ -D-葡聚糖检测试剂盒(终点显色法)的注册证,填补了国内空白。

如今,新北已从当年的幼苗成长为大树。公司产品被销往全国各地,占有全国三分之一鲎试剂市场份额;公司研发的各种鲎试剂产品获得多项国家专利和国家及省市级学术奖励。新北正在不断提升产品质量、改进产品包装,即将进军国际主流市场。

(收稿日期: 2018-09-28)

(上接第11页)

and kinetics of its coagulation by endotoxin [J]. *Thromb Diath Haemorrh*, 1968, 19(1): 186-197.

- [13] Sekine S, Imaizumi H, Masumoto K, *et al.* Usefulness of endotoxin activity assay for early diagnosis of sepsis [J/OL]. *Crit Care*, 2015, 19(Suppl 1): P49 [2018-04-13]. doi: 10.1186/cc14129.
- [14] 蒋庆军. 内毒素检测在内毒素血症中的应用 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2008, 17(33): 5229-5232.
- [15] Kang M, Tsunoda M, Saito M, *et al.* Early diagnosis of sepsis

due to Gram-negative infection with the endotoxin activity assay [J/OL]. *Crit Care*, 2014, 18(Suppl 2): P74 [2018-04-13]. doi: 10.1186/cc14077.

- [16] 国家药典委员会. 通则 1143 细菌内毒素检查法 [M]// 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 年版四部. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 155-156.
- [17] 焦炳华, 余庆. 内毒素的化学结构及其与功能的关系 [J]. *国外医学: 分子生物学分册*, 1987, 9(4): 168-170.

(收稿日期: 2018-07-09)