

Version: 01
Update: 09/30/2022

ToxinSensor™ Single Tests Kit with Standard

Cat.No.: L00856、L00857、L00858、L00859

使用说明

GenScript ToxinSensor™ Single Tests Kit with Standard 是一种体外细菌内毒素检测系统，适用于人和动物注射用药物、生物制品和医疗器械。该系统不适用于检测许可试剂、临床样本中的内毒素或诊断人类疾病。LAL 试剂由来自鲎 (*Tachypleus tridentatus*) 的变形细胞裂解物制成。该系列产品包括 0.03EU/ml、0.06EU/ml、0.125EU/ml、0.25EU/ml 四种灵敏度的鲎试剂，同时有 20 支/40 支两种规格可供选择。本品可按照《中国药典》2020 版-细菌内毒素检查法进行相关实验。

警告

不适用于含有 β -葡聚糖的样品检测， β 葡聚糖会产生 G 因子旁路反应干扰内毒素检测。不适用于人类或动物的内毒素血症或临床诊断、患者管理、细胞细菌培养基、血清、血液或血液制品。

背景

对于生物制药公司而言，内毒素检测是一项关键的质量控制测试，可确保药品生产不受内毒素污染。

简介

该试剂盒设计为一种定性分析方法，可简单灵敏地检测样品中是否存在 LPS。试剂盒中提供的冻干变形细胞裂解液要用细菌内毒素检查用水复溶，然后与待测溶液等份混合。孵育适当时间后，在内毒素存在的情况下，形成凝胶；在没有内毒素的情况下，不会发生凝胶。

特征

- 真空试管包装具有良好的重现性
- 广泛的应用范围
- 直接加样操作简单

产品图片

(以 20 支包装为例)



试剂盒介绍

| Product Name | Cat. No. | Size | Sensitivity |
|---|-----------|---------------------------------|-------------|
| ToxinSensor™ Single Test Kit with Standard | L00856-20 | 20 Assays +1 bottle of Standard | 0.03 EU/ml |
| | L00856-40 | 40 Assays +1 bottle of Standard | |
| | L00857-20 | 20 Assays +1 bottle of Standard | 0.06 EU/ml |
| | L00857-40 | 40 Assays +1 bottle of Standard | |
| | L00858-20 | 20 Assays +1 bottle of Standard | 0.125 EU/ml |
| | L00858-40 | 40 Assays +1 bottle of Standard | |
| | L00859-20 | 20 Assays +1 bottle of Standard | 0.25 EU/ml |
| | L00859-40 | 40 Assays +1 bottle of Standard | |

其他需准备材料及设备

- 0.1 M 氢氧化钠，溶解在细菌内毒素检查用水中。必要时用于调节供试品 pH
- 0.1 M 盐酸，用细菌内毒素检查用水稀释。必要时用于调节供试品 pH
- 水浴锅或内毒素凝胶测试仪，设置在 $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.0\text{ }^{\circ}\text{C}$
- 涡旋仪
- 细菌内毒素检查用水
- 无内毒素枪头、试管
- 计时器

储存条件

产品需储存在 $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。不要冷冻试剂盒或其任何组分。COA 文件可以在金斯瑞官方网站 (<https://www.genscript.com.cn/>) 通过货号 (Cat.No.)、批次号 (Lot.No.) 查询获得。

实验步骤说明

一、 样本制备

用于样本采集和制备或测试试剂的所有材料或稀释剂必须不含内毒素。供试品必须以阻止所有细菌活动的方式储存。例如，建议使用前 24 小时内可以储存在 $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，但长期使用需冷冻保存。如果供试品的预估水平比较高，建议在检测前进行适当的涡旋，防止内毒素聚集出现假阴性。

干扰试验

无内毒素检查项的品种新建立内毒素检查法时都应按照《中国药典》2020 版-细菌内毒素检查法进行干扰实验的测试。若有任何可能影响实验结果的变化发生时，需重新进行干扰试验。

pH

使用细菌内毒素检查用水溶解或稀释供试品。由于鲎试剂内毒素反应依赖于 pH，供试品的 pH 值应在 pH 6-8 ($18-26\text{ }^{\circ}\text{C}$) 以确保可靠的结果。因此，如有必要，我们建议使用 0.1 M 氢氧化钠或 0.1 M 盐酸调节供试品 pH 值。

MVD（最大有效稀释倍数）

通过内毒素限度（单位为 EU/ml）除以鲎试剂灵敏度 λ 计算得出的稀释系数。当供试品中估计的内毒素水平非常高时，可在检测前稀释。稀释系数由 MVD^* 决定。为获得最佳结果，请勿超过 MVD。

二、 试剂准备

内毒素标准品（E. coli Endotoxin Standard）

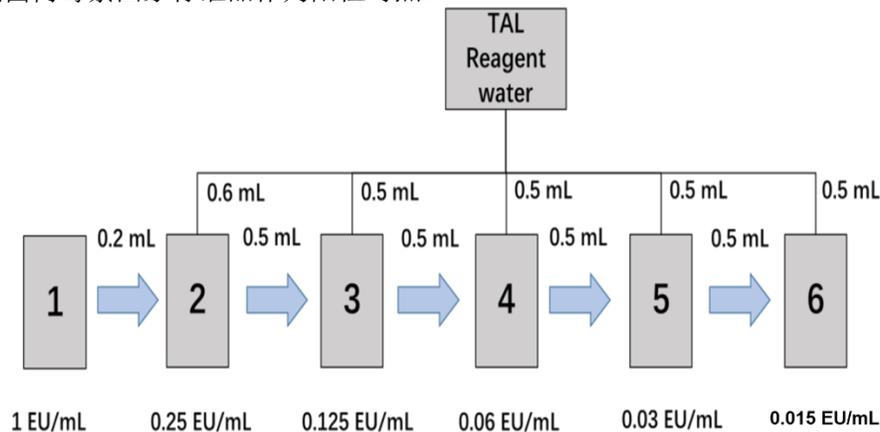
每批次冻干内毒素标准品的效价可能不同，具体请参考试剂瓶的标签。建议使用适当体积的细菌内毒素检查用水来溶解冻干内毒素标准品。例如，通过加入 2 ml 细菌内毒素检查用水溶解 30 EU 的冻干内毒素标准品。通过涡旋彻底混合 15 分钟以获得 15 EU/ml 的内毒素储备溶液，该步骤非常重要，必须确保非常充分的涡旋。配制好的内毒素原液在 2-8°C 下可稳定保存 1 周。内毒素原液存放超过 10 分钟的需要再次涡旋 1 分钟。不建议冷冻内毒素标准品母液。

鲎试剂灵敏度复核

当使用新批次的鲎试剂或者试验条件改变可能影响检验结果时，需要根据《中国药典》2020 版细菌内毒素检查法进行鲎试剂的灵敏度复核实验。复核时需使用细菌内毒素国家标准品或试剂盒中匹配批次的细菌内毒素工作标准品进行。当复核结果 λ_c 在 $0.5\lambda-2\lambda$ 之间，均认为标识的灵敏度值是准确的。

阳性对照

阳性对照一般为 2λ ，以 $\lambda=0.25\text{EU/ml}$ 为例，则需使用 $2\lambda=0.5\text{EU/ml}$ 的内毒素溶液作为阳性对照。将上述得到的内毒素原液为 15 EU/ml，则用细菌内毒素检查用水稀释该制成 0.5 EU/ml 溶液，如下图所示。每一步稀释液应使用涡旋彻底混合 30 秒，每次稀释不得超过 10 倍。注意使用试剂盒内匹配批次的内毒素工作标准品或外购细菌内毒素国家标准品作为阳性对照。



阴性对照

细菌内毒素检查用水可用作阴性对照。

供试品阳性对照

以 $\lambda=0.25\text{EU/ml}$ 为例，则供试品阳性对照指含有 0.5EU/ml 的内毒素标准品溶液的供试品。

供试品

待测样品。

三、 测试步骤

注意：通常情况，每个反应都需要设置至少 2 组平行确保可靠的结果。

1. 将装有鲎试剂的小管用作测试容器。由于试管是真空包装，使用前，先小心地打开橡皮塞但不要完全取下，然后在实验桌面上轻轻敲击小瓶底部，将小瓶中的所有冻干粉聚集在瓶底。再小心取下橡胶塞，注意避免微生物和内毒素污染。
2. 小心地将 0.2 ml 阳性对照、供试品阳性对照、阴性对照和供试品转移到鲎试剂小管中。轻轻摇晃 3-5 次混合，不可颠倒混匀。
3. 迅速放入 37°C ±1°C 的水浴或内毒素凝胶测定仪中孵育所有试管。孵育时保持试管直立，避免震动。
4. 孵育 60 分钟后取出，轻轻倒置每个试管并检查是否形成凝胶。
5. 检查时不要剧烈摇晃或来回翻转，这可能会破坏凝胶状态。
 - a) 阳性反应的特征是形成牢固的凝胶，当小瓶倒置时，该凝胶保持完整。
 - b) 阴性反应的特征是不存在固体凝块。试剂浊度增加但仍可流动这被认为是阴性结果。
6. 当阴性对照不凝胶，阳性对照及供试品阳性对照凝胶时，实验才有效。如果阴性对照凝胶，则可能是环境或所使用的耗材有污染引入。如果阳性对照不凝胶，则可能是鲎试剂失效、内毒素标准品效价降低或其他稀释或孵育操作过程引入的异常。如果供试品阳性对照不凝胶，则可能是体系有干扰。
7. 内毒素水平的判定：本试验中可对供试品进行一系列稀释，同时进行测试。当供试品管结果呈阳性，则指示内毒素水平等于或高于试剂盒标识的内毒素水平；当供试品管结果呈阴性，则指示内毒素水平低于此试剂盒标识的内毒素水平。如果供试品是经过稀释处理的，则其结果乘以稀释倍数，即为原样内毒素水平。

四、 案例

1. 样品：通过 Ni-NTA Resin 从大肠杆菌裂解物中纯化蛋白 A（1 mg/ml，溶于 PBS，pH 7.4），已确认该样品不存在任何干扰因素，未设置供试品阳性对照。
2. 使用细菌内毒素检查用水进行稀释：1: 200,000, 1: 400,000, 1: 800,000
3. 测试按上述步骤进行，检测结果如下表：

| Positive control | Negative control | 1: 200,000 | 1: 400,000 | 1: 800,000 |
|------------------|------------------|------------|------------|------------|
| + | - | + | - | - |

4. 以 0.25EU/ml 鲎试剂为例，则本样品内毒素浓度为：200,000×0.25EU/ml~400,000×0.25 EU/ml，即 50,000~100,000 EU/ml。

For research and manufacturing use. Direct human use, including taking orally and injection are forbidden.

生产商：南京金斯瑞生物科技有限公司 江苏省南京市江宁区科学园雍熙路 28 号

Manufacturer: Nanjing GenScript Biotech Co., Ltd. No. 28 Yongxi Road, Jiangning District, Nanjing, Jiangsu, China