

内毒素的检测与鲎试验 (三)

第二军医大学微生物教研室内毒素研究组 余庆 焦炳华

(三) LT在环境系统内毒素检测中的应用

LT可用于环境卫生如自来水、河水、井水、蒸馏水及食品卫生如饮料、牛奶、肉品、蛋类制品等污染情况的监测。

1. 水的监测

目前水质卫生的细菌学指标均以大肠菌数指数、大肠菌数值作为主要标准, 这些方法虽然所用原料简单, 操作方便, 但每份标本的检查需24小时或48小时才能得出结果, 而采用LT法检查水中细菌的污染情况, 采样后只需2小时即能出结果。

据国外资料报道, 水中总内毒素浓度(尤其是结合内毒素浓度)与细菌菌落数之间存在明显的正比关系。如以细菌菌落对总内毒素或结合内毒素的对数转换值作一回归曲线, 则可显示出两者的高度相关性, 因此检测水中的内毒素量可了解水中细菌污染的情况。

LT法可检出每ml低达100个革兰氏阴性菌, 因而是极为敏感的方法。此外, LT尚能检出管道水中的另一些细菌, 如嗜铁细菌、硫酸盐还原菌以及许多鞘膜细菌(Sheathed bacteria)等。这些细菌虽属非病原菌, 但能引起腐败及令人讨厌的怪味, 因而亦有一定的公共卫生意义。

Diluzio曾从8个城市采集的18个饮水标本中测得16个标本含有内毒素, 其中个别自来水水中内毒素可达 $800\mu\text{g}/\text{ml}$ 。还发现从密西西比湖中作为自来水源采取的标本中, 内毒素含量约为 $400\mu\text{g}/\text{ml}$, 而经过处理后的自来水含内毒素约为 $1\mu\text{g}/\text{ml}$, 这说

明在饮用水的纯化过程的内毒素的含量亦相应减少, 但目前尚不知纯化过程中哪一阶段能起到这一作用。从两口井所采集的水样, 其中一口为阴性, 另一口为阳性, 可能与井的深度有关。推测深井水土壤的过滤有去除内毒素的作用。

一般水源不需稀释即可进行LT试验, 污染严重的水源, 可先离心沉淀后取其上清液进行测定。

2. LT应用于食品卫生的监测

(1) 肉类制品: 肉类制品的腐败菌主要为革兰氏阴性菌, 尤以假单胞菌为多。在潮湿高温中, 变形杆菌在肉品表面繁殖迅速而使肉品变质。其它的革兰氏阴性菌如大肠杆菌、副溶血弧菌亦能在肉制品中生长。因此这些食品中均含有一定量的内毒素。应用LT法不仅能检出食品中内毒素的含量, 亦能间接地反映肉制品被细菌污染的程度。

测定时取一定数量的肉类制品, 去脂肪, 打碎离心沉淀, 然后上清液作内毒素测定。用此种方法, 可检出 0.1ng 的内毒素,

LT法可作为食品卫生质量的一个指标。Jay提议鲜牛肉经1000倍稀释后而LT为(-)者, 则说明食品的细菌学质量优秀。

(2) 蛋、蛋制品: 蛋的败坏变质亦主要由革兰氏阴性菌引起, 故变质的蛋及蛋制品中含有较高的内毒素, 曾有报道说变质的咸鸭蛋及皮蛋中常含有大量的内毒素。应用LT法可选择出这些含量高的蛋。

(3) 牛奶、饮料: 1976年Hartman首先报道LT可测出革兰氏阴性菌引起的牛乳腺炎的乳汁中的内毒素。以后Diluzio在

奥尔良市牛奶标本中亦发现有内毒素，含量约为30~130 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。牛奶放置室温24小时，随着细菌的增殖内毒素含量亦相应地增高，一般可升高16倍。

一般市售的啤酒、饮料及酒，LT均为(-)。但有些饮料是经细菌发酵后制得的，因此这些饮料应常规地应用LT法进行内毒素的检测。

(四) 医疗器械和设备的内毒素检测

FDA于1975年已批准用LT法代替美国药典的RT法而用于医疗器械及设备的内毒素检测。FDA下属的医疗器械管理局(Bureau of Medical Devices, BMD)于1977年11月4日发表的《联邦文件档》(Federal Register)的注释中明确规定厂方只有应用LT法检测医疗器械的内毒素，其产品才能出厂。并且这种LT法必须被BMD所承认。

具体检测方法为：每10个注射器、输液导管、塑料管及其它外科用手术器械以20~40ml无热原生理盐水充分灌洗和浸泡，总量200~400ml。取此液进行内毒素的测定。规定医疗器械的内毒素含量不得超过0.1ng/ml，接触脑脊液的器械的内毒素含量不得超过0.04ng/ml，并应作抑制/增强试验。

BMD于1981年5月规定对168种器械须作内毒素检测，包括胃肠道、尿道及普外手术器械73种、心血管手术器械61种、神经手术器械23种、妇产科及放射科器械6种、整形器械4种、眼、耳鼻喉及口腔器械1种。

医疗器械内毒素的测定，可减少医疗过程中外源内毒素的污染。

(五) 临床病材的内毒素检测

检测血液、尿液及脑脊液中的内毒素，有助于临床上细菌感染性疾病(如革兰氏阴性菌血症、败血症、内毒素休克、革兰氏阴性菌尿路感染及革兰氏阴性菌脑膜炎等)的诊断。

1. 血液中内毒素的检测

正常健康人血液中是不含内毒素的，但亦偶具有些无菌性内毒素血症病人，其血液中可有少量的内毒素存在。此种情况如网状内皮细胞系统功能障碍、肠道粘膜屏障损伤、局部阴性菌感染、污染大量内毒素的注射用品、输液及输血等均可引起。

测定血液中的内毒素，为快速诊断阴性菌血症、败血症、脓毒症及内毒素休克的有用辅助方法。通常的血液细菌培养法，大多需24~48小时才能出结果，所以达不到快速的要求，而应用LT法检测内毒素，则一般只需1~2小时即可。大多数革兰氏阴性菌感染病人，尤其是菌血症、败血症、脓毒症、内毒素休克的病人，LT试验多为(+)，且此反应的阳性率与血液内细菌数有密切关系。一般血液内细菌数 >1000 个/ml即可使LT呈(+)。因此LT法诊断此类疾病有较大的价值，特别是对于内毒素休克病人。一般讲，革兰氏阴性菌血症及败血症约有40%可并发内毒素休克。内毒素休克是一种特殊类型的休克，其致死性极高，死亡率可达25~50%，有的作者报告还要高。此种类型的休克，从休克过程中的可逆阶段到不可逆阶段的转变时间极短，一般仅数秒到数分钟，因此往往来不及进行及时正确的诊断及有效而确实的治疗。LT法测定血液中的内毒素，则可预示内毒素休克的发生，在临床上具有重要的实际意义。

在进行血液内毒素检测时，往往由于血浆内存在内毒素抑制物质而致LT敏感性降低。因此常要在测定前除去这些抑制物质。

2. 尿液中内毒素的检测

尿定量细菌培养为常规的尿路感染检测方法，一般细菌数 $\geq 10^5/\text{ml}$ 尿则可确定尿路感染的诊断。此法较为可靠，并可直接移种细菌进行药敏的测定，以指导临床正确应用抗生素。但此法费时，常需24~48小时才能出结果。尿液LT法检测内毒素快速、方便，有利于尿路感染的快速诊断。

五、存在问题

尽管鲎试验应用于许多领域的内毒素检测，确实取得了许多成绩，解决了不少实际问题。但仍存在不少问题，主要有五点：

1. 药物与医疗器械的热原允许含量；
2. 内毒素与热原的关系；
3. 内毒素的抑制因子；
4. 鲎试验的标化；
5. 内毒素的标化；

(一) 药物与医疗器械的热原允许含量

由于很小剂量的内毒素即能引起机体产生一系列生物效应及病理效应，而许多药物（包括大输液、静脉注射剂、口服药物、放射性同位素、各类生物制剂），在其原料、制备过程及制备后的各个环节，或多或少地受到内毒素污染。各类医疗器械由于消毒不严格（内毒素需120℃ 4小时才能完全破坏）亦可受到内毒素的污染。所以检测药物及医疗器械内毒素的含量，以便有效地采取控制内毒素的含量的措施，使显得具有重要的实际意义。对此问题尽管国内外组织了许多人力物力进行研究，并提出了许多有参考价值的意见，但国内外许多专家、厂家对此仍有甚多不同的意见。

1. 药物方面

药物内毒素的允许含量是多少？其根据是什么？目前对此问题仍未有一个满意的回答。以人类内毒素允许接受限量作为药物内毒素允许含量的参考较为适宜。而发热为机体对内毒素反应最为敏感的现象之一，且发热亦最易判断，因此可将药物发热的阈值剂量作为内毒素允许含量的上限。

早在1961年Keene等即观察到30ng/kg从衰败沙雷氏菌提纯的内毒素为引起人发热的阈值点，所以对此种内毒素，阈值剂量即为30ng/kg，人类应用30ng/kg以下是安全的。

在临床实践中观察到，尿液LT(+)与尿液革兰氏阴性菌培养阳性率是基本一致的，尿培养到阴性菌，测尿液的LT99%呈(+)，两者显示高度的相关性。故证明LT用于尿路阴性菌感染更具价值，一般认为尿标本经1:100稀释与敏感度为1ng/ml的鲎试剂呈阳性反应者，可代表每ml尿中含有的细菌数为10⁵。

尿液内毒素测定时，一般取清洁中段尿或经导尿取得尿标本，并在试验前以无菌无热原生理盐水作适当的稀释。一般尿液中不存在内毒素抑制物质。

3. 脑脊液中内毒素的检测

细菌性脑膜炎为一种十分凶险的疾病，其发展迅速，死亡率高，目前尚缺乏快速、敏感、可靠的诊断方法。

Siegel等综合了7位作者的研究结果，发现在培养到阴性菌的237例阴性菌脑膜炎中，有225例LT为阳性，阳性率为95%，两者基本一致，故LT可用于阴性菌脑膜炎的快速诊断。脑脊液中不存在LT反应的抑制物质，故标本不必经处理。脑脊液中的内毒素相对不稳定，不被网状内皮系统迅速清除，而循环中的内毒素亦不能通过血脑屏障而入脑脊液。另外，脑脊液LT的阳性率一般不受事先应用抗生素治疗的影响。

试验时常以无菌方法采集脑脊液0.5ml，立即测定。一般不需处理，如脑脊液有血液污染，白细胞过高或蛋白成分过多，则可先离心沉淀取其上清进行测定。

总之，测定血液、尿液、脑脊液中的内毒素有利于有关革兰氏阴性菌感染性疾病的诊断及预后判断。但其亦有下列缺点：

- ①不能协助诊断阳性菌感染性疾病，且有些霉菌亦可使LT试验(+)；
- ②不能确定感染性疾病由何种阴性菌引起；
- ③不能识别混合感染。

1980年1月18日美国食品药品监督管理局起草了“鲎试验法定作为人、兽用药及医疗器械终产品试验准则”，并规定对于大多数药物（不包括大输液及鞘内注射剂），以重量/公斤（人体重）计算，如产品内毒素含量 $\leq 0.5\text{ng/kg}$ ，则此产品可以允许出厂，但是没有明确的数据支持此规定。为此Pearson等应用大肠杆菌 $O_{55}B_5$ 、福氏痢疾杆菌、流产沙门氏菌、衰败沙雷氏菌、绿脓菌、克氏杆菌等的内毒素测定了其对于家兔的阈值剂量值。事实上，家兔与人体内毒素的反应较为一致，家兔比人对内毒素更为敏感，因此试验结果是确实，而可应用于人。这些细菌对内毒素的阈值剂量值分别为：

大肠杆菌 $O_{55}B_5$ 内毒素：稍大于 1.0ng/kg ；

流产沙门氏菌内毒素：稍大于 1.0ng/kg ；

福氏痢疾杆菌内毒素： 2.0ng/kg ；

衰败沙雷氏菌内毒素： 15ng/kg ；

绿脓杆菌内毒素： 370ng/kg ；

参考标准内毒素（大肠杆菌 $O_{111}B_4$ 内毒素，EC-2）的阈值剂量为 1.05ng/kg ，平均发热剂量（average pyrogenic dose, APD）为 1.43ng/kg 。从这些结果来看，细菌内毒素的阈值剂量均为 1.0ng/kg 以上。

在1977~1979年间，上述作者检查了530,371份制备过程中的半成品及终产品的内毒素含量，内毒素为 $0.05\sim 0.2\text{ng/ml}$ 的有489份， $>0.2\text{ng/ml}$ 有70份。在内毒素含量为 $0.05\sim 0.2\text{ng/ml}$ 的489份标本中，仅有13例RT法为(+)，占3%，内毒素含量 $>0.2\text{ng/ml}$ 的70份标本中，仅8份RT法为(+)，占11%。因此，对于大多数药物（不包括大输液和鞘内注射液）， 1ng/ml 为人可接受的内毒素上限值，以 0.1ng/ml 作为这些药物内毒素的允许含量有较高的保险系数（安全系数为10）。

1980年对17家国际药厂生产的药品应用RT及LT法进行了研究，以考察大输液内毒

素的允许含量。67份内毒素含量为 $50\sim 200\text{pg/ml}$ 的检品LT法均为(-)，RT法(-)的有66份，占98.5%，RT法(+)者1份，仅占1.5%，18份内毒素含量 $>200\text{pg/ml}$ 的检品，17份RT法(-)，占94%，RT法(+)者仅1份，占69%。因此内毒素含量、LT法及RT法三者间在内毒素 $<200\text{pg/ml}$ 时有平行的关系，因而将 100pg/ml （相当于 1.0ng/kg ）作为静脉大输液内毒素的允许含量是安全的。

2. 医疗器械内毒素的允许含量

BMD于1977年11月4日明确指出，LT法应作为医疗器械内毒素检测的试定方法。此后，HIMA（Health Industry manufactures Association，保健工业工厂联合会）组织了一个合作研究，有生物制品管理局（BOB）下属的生物测试分局及几个工厂的试验室参加。研究结果推荐 0.1ng/ml （ 10ml/kg ）（相当于E.coli $O_{55}B_5$ 内毒素效能）作为医疗器械内毒素的允许含量。对于接触脑脊液的医疗器械，内毒素的允许含量为 0.04ng/ml ，因内毒素进入脑脊液中容易引起毒性反应。

（二）内毒素与热原的关系问题

目前很多文献中，热原与内毒素为同义词，经常互用。但并不是所有的内毒素均有很强的致热性，因为已经证明某些天然的内毒素致热性较弱、需要较大的剂量（如 $>2\mu\text{g/kg}$ ）时才能引起发热。反之，亦并不是所有的能引起发热的物质均为内毒素。许多化学物质，特别是中枢作用药如利血平、丙咪嗪、5-羟色胺、胍乙啶在一定条件下亦能致热。各种微生物及其产物、免疫复合物及激素等均可引起发热。而这些发热物质易被热力破坏，故大输液和药品、器械在工业生产过程中容易防止污染而被清除，仅有内毒素难以清除，易造成危害。

（三）内毒素抑制因子问题

内毒素抑制因子又称内毒素抑制物质，

主要存在于血浆中。血浆中内毒素抑制因子很多，因此内毒素抑制因子并非仅为一种单一的成分，而是由好几种（甚至数十种）物质组成。内毒素抑制因子与内毒素的作用为一种可逆的反应，并不破坏内毒素，当采取各种方法除去或破坏这些抑制因子后，内毒素的活性可以完全恢复。

目前对内毒素抑制因子的本质尚未完全搞清，一般认为可能有下列几类：

1. 蛋白酶类：有人发现血清中的两种 α_2 球蛋白对内毒素有抑制作用。在 Ca^{++} 存在下，一种耐热的血清酯酶有抗内毒素的作用，另一种不耐热的 α -球蛋白可使LPS碎片去毒性。

日本学者小林正义从血清中分离到称为 E_1 和 E_3 的内毒素抑制因子，根据其分子量、

碳水化合物含量、氨基酸成份，以及应用免疫扩散及免疫电泳技术证明 E_1 即 α_1 -抗胰蛋白酶(α_1 -AT)， E_3 即抗凝血酶Ⅲ(At-Ⅲ)。继而，用纯化的 α_1 -AT及At-Ⅲ亦证实其有抑制LT反应的作用。其中的 α_1 -AT的抑制作用强，At-Ⅲ的抑制作用较弱。但后者在肝素存在时，抑制作用可增强。

2. 菌体抗体：亦称O抗体，为内毒素O抗原刺激机体而产生的。动物实验证明，抗体对LT反应有抑制作用，抑制机理可能为与内毒素的O抗原结合。O抗体的抑制作用是有型特异性的，与补体无关。其它如胆汁酸盐、药物(EDTA，肝素、青霉素和多粘菌素B等)对LT反应亦有抑制作用。

常用除去血浆抑制因子方法的除去能力如表3所示。

表 3 各种预处理法对内毒素抑制因子的去除能力

方 法	去 除 能 力 (%)			
	α_1 -AT	α_2 -MG	At-Ⅲ	α_2 -PI
氯仿法	50~80	30~50	50	85
稀释加热法	20~40	50~60	50	85
乙醚法	效果差			
加热法		效果差		
凝胶过滤法		效果较好		

从表3的结果可以看出，上述几种方法均不能完全去除血浆中的抑制因子。今后宜加强这方面的研究。

(四) 鲎试剂的标化问题

鲎试剂为鲎变形细胞的细胞溶解物，制备时可采用裂解法和机械方法使细胞破裂。鲎试剂的敏感性可受到动物个体差异、季节差异及生产工艺过程中不稳定因素的影响。因此各批次间，其敏感性差异很大。即使是同一批试剂，由于操作、保存方法、环境因素等影响，其敏感性亦不一样。鲎试剂在液态时极不稳定，往往很难保存。贮存于4℃冰箱，其活性一般于4~5月开始下降，8个月左右完全失活。冷冻保存的稳定性稍

高于液态保存。真空冻干粉剂保存为目前最好的方法，-30℃保存其有效期可达2年。

改善生产工艺，控制制剂中的参数，可使试剂的敏感性和稳定性增高。国内丁友玲等报道，鲎试剂含水量控制在5%以下，总蛋白量控制在5mg/ml以上， Ca^{++} 、 Mg^{++} 控制在0.01~0.1M，可使鲎试验的稳定性提高，重演性增强。

实验前，应以WHO标准内毒素作标定，如试剂敏感性为1ng/ml或<1ng/ml，则认为是敏感的，可以应用。美国制备了参考鲎试剂，各种鲎试剂在应用前与其比较，可获得相对效力。

除应解决好鲎试剂的标化问题外，对鲎

试剂的操作程序亦应标准化, 因为操作上微小的差异即可使试剂的敏感性改变。

(五) 内毒素的标准化问题

从各种细菌制备的内毒素, 或以同一种细菌制备的内毒素, 或内毒素批次间、批次内, 其活性均可不一致。所以应用LT法检测内毒素时, 需要一个标准的内毒素作为对照参比。

大肠杆菌内毒素在各种细菌内毒素的LT反应上处于中值的位置(图4), 且其稳定、可溶, 因此将大肠杆菌内毒素作为参考标准内毒素(Reference Standard Endotoxin, RSE) 是较为适宜的。

1. 耶尔森肠炎杆菌内毒素
2. 普通变形杆菌内毒素
3. 内酰胺酶奈瑟氏菌内毒素
4. 奇异变形杆菌内毒素
5. Novo—Pyrexal 内毒素
6. 摩根氏变形杆菌内毒素
7. 衰败沙雷氏菌内毒素
8. 大肠杆菌O₁₁₁内毒素
9. 霍乱肠杆菌内毒素
10. 肠炎沙门氏菌内毒素
11. 斯氏普罗威登斯菌内毒素
12. 绿脓杆菌内毒素
13. 蛇克雷伯氏菌内毒素
14. 克氏肺炎杆菌内毒素
15. 志贺氏痢疾杆菌内毒素
16. 脆弱类杆菌内毒素
17. 产荧光假单胞菌内毒素

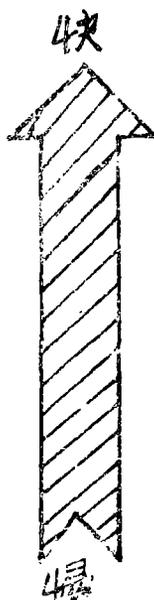


图4 各种细菌LT的相对反应性

根据以上理由及原则, 美国FDA下属

的生物制品管理局(BOB)组织了大规模的研究, 制备了一系列标准参考内毒素(表4), 分别命名为16、EC、EC-1, EC-2……, EC-5。其中EC-2是以大肠杆菌O₁₁₁B₄(Braude株)提取的, 各项指标均为满意。

表4 BOB制备的RSE制剂

编号	提取的细菌种类	冰冻干燥年份
16	克氏肺炎杆菌	1972
EC	大肠杆菌 O ₁₁₁	1975
EC-1	大肠杆菌 O ₁₁₁	1976
EC-2	大肠杆菌 O ₁₁₁	1977
EC-3	大肠杆菌 O ₁₁₁	1980
EC-4	大肠杆菌 O ₁₁₁	1980
EC-5	大肠杆菌 O ₁₁₁	1981

日本从大肠杆菌UKTB中提取了内毒素, 作为日本的标准参考内毒素, 采用酚水抽提法, 然后再用乙醇沉淀。化学分析、热原性及鲎试剂激活性完全符合RSE的标准。且其在干燥状态下稳定性极好, 可长期应用, 但如溶于水, 则稳定性可下降。

最近美国药品部门已向WHO提供了一批新的RSE, 供国际上检测时作为参比用, 这使世界上LT试验结果容易统一。实际上WHO对此早就组织了合作研究, 包括多种鲎试剂及内毒素。

从理论上讲, 一种RSE需满足下述条件:

- ①干燥制剂;
- ②在性质是可用的;
- ③在室温下稳定;
- ④吸湿性少;
- ⑤易溶于水;
- ⑥在水及生理盐水中清澈;
- ⑦可致家兔及人反

新书信息

《美国药典21版溶出试验与异物检查规定》出版

美国药典21版自1985年1月起开始生效。为了迅速向国内医药单位和读者介绍, 我刊收集翻译部份文章作为1986年增刊以供参考。内容包括①溶出试验品种372个、②崩解试验品种135个、③溶出及崩解均不测试品种65个、④小容量注射液近400种; 全部药名均以中英对照刊出。

本资料内容新颖实用, 需订购者从速将款汇至本刊编辑室(每本定价0.60元, 需挂号者另加0.12元), 款到即可寄书。

(编辑室)

应；⑧须从常见的菌株提取。

但目前所有RSE均不完全符合上述条件，因此，有关内毒素的标化问题仍须进行深入的研究。

具体检测时，各实验室可采用对照标准内毒素（Control Standard Endotoxin, CSE），但其效能必须先以RSE进行标定。CSE效能的计算公式为：

$$\text{CSE效能} = \text{GM比值} \times \text{E Eu}/\mu\text{g}$$

其中GM比值为算术平均值，E为RSE的效能，常为6000Eu/管，CSE与RSE作平行的LT试验，试管数N应大于16，然后算出CSE与RSE相应的比值 R_1, R_2, \dots, R_N ，将这些比值换算成以10为底的对数值，然后计算平均和标准的SD，平均SD的反对数即为GM比值。

1981年9月美国、日本、英国、西德、瑞典、意大利六国学者及监定部门的代表在美国 Woods Hole 海洋学院召开了用于注射用品的鲎试剂和内毒素标准的国际会议，会上Difco实验室的Fleishman报告了“自多种革兰氏阴性菌内毒素的LT法检测热原的比较”一文，提出了被检内毒素相对活力的概念，即与参考标准内毒素（EC-2）比较后的相对活力，计算公式为：

$$\text{内毒素的相对活力} = 5 \text{ Eu}/\text{ng} \div \frac{\text{待测内毒素的凝胶化终点}}{\text{EC-2的凝胶化终点}}$$

其中5 Eu/ng是FDA标准内毒素EC-2的指定活力。

六、结束语

自1964年Levin和Bang发现内毒素和鲎试剂能形成坚固凝胶后，即以此为原理设计了检测内毒素的试管法。为了克服试管法的缺点，近廿年来创用了许多LT检测法，如玻片法、比浊法、比色法、干固法、小珠鲎试验法、产色基质法、荧光测定及荧光探针技术、放射性碘标记凝固蛋白原检测法、

火箭免疫电泳检测法等，使检测内毒素的敏感性越来越高，最高可检测到 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 水平。除此以外，内毒素检测的各种LT法已广泛地应用于药检系统、食品卫生系统、公共卫生系统，对各种药物、水质、饮料、食品等进行内毒素检测，并初步规定了其内毒素的允许含量。在临床上的应用亦十分广泛，如测定血液中的内毒素可协助诊断阴性菌血症、败血症、脓毒症及内毒素休克等；测定尿液的内毒素可用于尿路感染的诊断；测定脑脊液中的内毒素可用于阴性菌脑膜炎的诊断等。

为了解决内毒素的标化问题，使结果判断更为客观和统一，各国政府纷纷拨款组织人力物力进行研究，试图找到理想的RSE供检测参比用，至今为止美国、日本、中国等国家共制备了十多种RSE。目前来看，美国的RSE中的EC-2为最好。WHO也组织了合作研究，试图找到一个供全球用的理想RSE。

有关鲎试剂的标化，存在问题较多。鲎试剂易受到动物个体差异、季节差异的影响，且不宜保存，容易失活，其敏感性易受各种条件（如试剂中蛋白含量、离子强度以及检测操作等）的影响而发生改变。因此鲎试剂的标化似比内毒素的标化更困难些。

上述种种问题，相信随着各种研究的不断深入，最终会得到满意的解决。

主要参考文献

- [1] 余庆、焦炳华：内毒素的检测，《内毒素学》，1986
- [2] 余庆：临床微生物学进展，上海医学检验论文汇编，1979
- [3] 余庆：临床微生物学新动向，上海中华医学会学术资料，1981
- [4] 焦炳华、余庆：内毒素的生物化学，生命的化学—生化通讯，1985；4：5
- [5] Waston SW, et al Endotoxin and detection with the Limulus amoebocyte lysate test, Alan R. Liss Inc.,

New York, 1982

- [6] Cohen E. Biomedical applications of horseshoe crab (limulidae). Alan R. Liss Inc., New York, 1971
- [7] Berheimer A. Perspectives in Toxinology. A Wiley Med Pub., New York, 1977
- [8] Enzinger RM. FDA Informational Bulletin. No.3, 1980
- [9] HIMA Document, No.7, Vol. 1, 1979
- [10] Levin J, et al. N Engl J Med 1970, 283 : 1313
- [11] 38FR 1404 (January 12, 1973)

- [12] 38FR 26130 (September 8, 1973)
- [13] 39FR 40016 (November 13, 1974)
- [14] 42FR 57749 (November 4, 1977)
- [15] 45FR 3668 (January 18, 1980)
- [16] 45FR 32290 (May 16, 1980)
- [17] USP XX (1980), p888
- [18] USP XX (Suppl 2, 1980) p.160
- [19] 王季午主编: 萤试验在医学中的应用, 浙江科技出版社, 1983
- [20] 丹羽允: 1985年3月交流材料
- [21] 小林正义, 药学杂志(日), 100 : 500, 1981
- [22] 本间逊, 吉田昌男: 内毒素, 1984

过氧乙酸特点及消毒应用

解放军第172医院 姜宝珍

过氧乙酸是一种广谱、高效、速效的消毒剂。最初于1902年用醋酸或醋酸酐使过氧化氢乙酰化而制得。到本世纪四十年代, 采用乙醛气相氧化法合成。至六十年代才较大规模地进行工业合成。近年来又采用酸性催化剂合成法, 使过氧乙酸的生产和应用得到了迅速的发展。过氧乙酸水溶液作为一种高效消毒灭菌剂在医疗卫生和农业产品的消毒、防腐方面得到了广泛的应用。

一、过氧乙酸的主要特点

过氧乙酸作为一种消毒剂, 具有以下主要特点:

1. 低毒、无害: 浓度在0.5%以下的过氧乙酸水溶液, 对人体无害。长期使用不会污染环境。
2. 杀菌效果好, 速度快、浓度低, 对各种微生物均有较强的杀灭作用, 消毒后无残余毒性。
3. 配制容易, 使用方便, 易溶于水, 易挥发。用水稀释后即可使用, 消毒后无遗留气味, 无痕迹, 消毒物品不需再洗滌。

4. 适用面广, 除无保护涂层的金属制品外, 大多数物品却可用其消毒, 低浓度可用于人体皮肤消毒。

5. 在常温和低温条件下, 均有杀菌作用。在-40℃只要加入防冻剂, 提高药物浓度、延长作用时间, 均能达到满意效果。

过氧乙酸的杀菌原理

过氧乙酸的杀菌作用主要是氧化作用, 其分解产物是醋酸、氧及水, 商品过氧乙酸中含有一定量的醋酸和过氧化氢。醋酸和过氧化氢均有杀菌作用。因此, 可以得知过氧乙酸的杀菌作用, 除本身的强大氧化作用外, 醋酸和过氧化氢也有一定的协同作用。

二、过氧乙酸在消毒上的应用

(一) 剂型: 本品常用的有混合型和配合型两种剂型。

1. 混合型可直接稀释使用。其主要缺点是在贮存过程中易分解, 含量降低, 浓度得不到保证。

2. 配合型: 为克服上述缺点, 试制成功了配合型的过氧乙酸。即把过氧乙酸制成