

T/CNPHARS

中国药理学会团体标准

T/CNPHARS 0003—2025

药品检验检测机构

光度检测技术鲎试剂质量标准

Specification of Horseshoe crab amebocyte lysate of photometric
quantitative techniques for institute of drug control

2025 - 11 - 19 发布

2025 - 11 - 20 实施

中国药理学会 发布

目 次

前言	III
引言	IV
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 质量标准	1
4.1 性状	1
4.2 鉴别	1
4.3 检查	2
4.4 检测限	2
4.5 标准曲线可靠性	2
4.6 批内精密度	2
4.7 准确度	2
5 贮藏	2
参考文献	3

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国药理学学会药检药理专业委员会提出。

本文件由中国药理学学会归口。

本文件起草单位：中国食品药品检定研究院、上海市食品药品检验研究院、河北省药品医疗器械检验研究院、北京市药品检验研究院、福建省食品药品质量检验研究院、湖北省药品监督检验研究院、山西省检验检测中心、江苏省药品监督检验研究院、苏州市药品检验检测研究中心、天津市药品检验研究院、山东省食品药品检验研究院、河南省药品医疗器械检验院、浙江省食品药品检验研究院、陕西省食品药品检验研究院、安徽省食品药品检验研究院、广东省药品检验所、辽宁省药品检验检测院、广西壮族自治区药品检验研究院、厦门市食品药品质量检验研究院、湛江安度斯生物有限公司、湛江博康海洋生物有限公司、查士利华微生物应用技术（上海）有限公司、福州新北生化工业有限公司、厦门鲎试剂生物科技股份有限公司。

本文件主要起草人：高华、蔡彤、裴宇盛、陈晨、唐黎明、万丽卿、朱幼芬、周玉岩、施麟、张雨、曹春然、李雪梅、肖斯婷、刘用国、杨秀静、许娇红、何开勇、吕晓君、杨雅婷、王婷婷、路超、任蓓、孟长虹、王瑶、李晓洁、陈卫、陈莉、朴晋华、华晓东、王冲、徐琳、祝清芬、张娟、董建欣、周继春、杨海燕、李展、康桦、桑晶、赵嘉、冯润东、王莉芳、贾首前、许雷鸣、方芳、钱宁、肖贵南、陈琪、陈素珍、赵志龙、樊华、周晓琳、张赞、莫玉焕、黄逯、陈惠玲、林干、熊向党、蒋俊芳、莫水晶、莫世文、董光宴、吴勇、刘骥、胡沁蕊、丁友玲、陈晓佳、林金海、吴尚毅、吴冠辰、林玉珠。

引 言

细菌内毒素检测是药品检测机构，特别是药检药理行业中的重要检测方法，该方法通过鲎试剂来检测供试品中的细菌内毒素来控制供试品中的热原（细菌内毒素）污染，保障临床用药安全。鲎试剂是细菌内毒素检测的专用试剂，其质量直接关系到全国细菌内毒素检测结果。涉及全国注射剂生产企业、药品检验检测机构。

本标准旨在规定光度检测技术鲎试剂（包括浊度检测法和显色检测法鲎试剂）的质量标准。包括鲎试剂的性状、鉴别、检查、检测限、标准曲线可靠性、批内精密度、准确度、贮藏等。本标准适用于药品检验检测机构以及涉及注射剂原辅料、包材及制剂的生产企业等机构开展细菌内毒素检验检测和科研工作。

药品检验检测机构 光度检测技术鲎试剂质量标准

1 范围

本标准旨在规定光度检测技术鲎试剂的质量标准。包括鲎试剂的性状、鉴别、检查、检测限、标准曲线可靠性、批内精密度、准确度、重复性、储藏等。本标准适用于药品检验检测机构以及涉及注射剂原辅料、包材及制剂的生产企业等机构开展细菌内毒素检验检测和科研工作。

2 规范性引用文件

中华人民共和国药典2025年版。

3 术语和定义

光度检测技术鲎试剂：本品为鲎科动物中国鲎（*Tachypleus tridentatus*）或美洲鲎（*Limulus polyphemus*）的血液变形细胞溶解物的冷冻干燥品。本品含C因子（Factor C）、B因子（Factor B）、G因子（Factor G）、凝固酶原（Proclotting enzyme）、凝固蛋白原（Coagulogen）、显色基质等。其中C因子、B因子及G因子均为丝氨酸蛋白酶；显色基质为显色法鲎试剂特有成分。本品可被细菌内毒素激活产生凝集或显色反应。

光度检测技术：包括浊度检测法和显色检测法。浊度检测法系利用检测鲎试剂与内毒素反应过程中的浊度变化而测定内毒素含量的方法。根据检测原理，可分为动态浊度法和终点浊度法。动态浊度法是检测反应混合物的浊度到达某一预先设定的吸光度或透光率所需要的反应时间，或是检测浊度增加速度的方法。终点浊度法是依据反应混合物中的内毒素浓度和其在孵育终止时的浊度（吸光度或透光率）之间存在的量化关系来测定内毒素含量的方法。显色检测法系利用检测鲎试剂与内毒素反应过程中产生的凝固酶使特定底物释放出呈色团的多少而测定内毒素含量的方法。根据检测原理，分为动态显色法和终点显色法。动态显色法是检测反应混合物的特定波长吸光度或透光率达到某一预先设定的检测值所需要的反应时间，或检测色度增长速度的方法。终点显色法是依据反应混合物中内毒素浓度和其在孵育终止时释放出的呈色团的量之间存在的量化关系来测定内毒素含量的方法。在本标准中动态浊度法鲎试剂和动态显色法鲎试剂统称为动态法鲎试剂，终点显色法鲎试剂和终点浊度法鲎试剂统称为终点法鲎试剂。

光度检测技术鲎试剂的检测限：本品能够被可靠检测出的检测限范围，在此范围内应可制备出符合要求的标准曲线

细菌内毒素标准品：细菌内毒素标准品分为国家标准品和工作标准品。其中国家标准品系自大肠埃希菌提取精制，并以细菌内毒素国际标准品标定其效价，用于标定、复核、仲裁鲎试剂灵敏度、标定细菌内毒素工作标准品的效价，干扰试验及检查法中编号B和C溶液的制备、凝胶法中鲎试剂灵敏度复核试验、光度测定法中标准曲线可靠性试验。细菌内毒素工作标准品系以细菌内毒素国家标准品为基准标定其效价，用于干扰试验及检查法中编号B和C溶液的制备、凝胶法中鲎试剂灵敏度复核试验、光度测定法中标准曲线可靠性试验（编号B和C的定义见《中国药典》四部附录1143细菌内毒素检查法）。

4 质量标准

4.1 性状

T/CNPHARS 000X—202X

本品为白色或类白色冻干块状物或粉末，在水中易溶。

4.2 鉴别

动态法鲎试剂：取本品，按标示装量溶解后，按反应体积取样，加入相应体积的0.5EU/mL的细菌内毒素标准品溶液，在3600秒内应生成典型的S型或反S型反应曲线。

终点法鲎试剂：取本品，按标示装量溶解后，按反应体积取样，加入相应体积0.5EU/mL或0.05EU/mL（当标示检测限为0.01EU/mL-0.1EU/mL时）的内毒素标准溶液，恒温反应相应时间，终止反应后溶液应显浅黄色，偶氮化后应显玫瑰红色。

4.3 检查

4.3.1 水分

0.3mL和以上装量规格的鲎试剂，照水分测定法（《中国药典》2025年版四部通则0832 第一法 2 库仑滴定法）检测，含水分应不超过5%。0.3mL以下装量鲎试剂可采用定期核查鲎试剂检测限的形式（如不少于每6个月一次），考察水分对鲎试剂活性的影响。

4.3.2 缓冲能力

取0.9%氯化钠注射液，加稀盐酸调节pH值为2.90~3.00，取此溶液适量与等量鲎试剂溶液混匀，pH值应为6.00~8.00。

4.4 检测限

动态法鲎试剂：阴性对照的反应时间减去标示检测限最低浓度点的反应时间应 ≥ 100 秒；标示检测限最低浓度点的反应时间应 ≤ 5500 秒；1.0EU/mL浓度点的反应时间应 ≤ 1500 秒。

终点法鲎试剂：最高检测限浓度测得的吸光度值 ≥ 0.50 ，阴性对照的吸光度值 ≤ 0.30 ，最低检测限浓度测得的吸光度值应大于阴性对照。

4.5 标准曲线可靠性

根据《中国药典》四部通则1143 细菌内毒素检查法中“标准曲线的可靠性试验的方法”，使用细菌内毒素标准品在标示的检测限范围内制备至少3个浓度的标准曲线，应包括标示检测限的上限和下限浓度，且相邻浓度间稀释倍数不得大于10。另外至少设置2管阴性对照。当阴性对照的吸光度小于或透光率大于标准曲线最低点的检测值，或反应时间大于标准曲线最低点的反应时间，将全部数据进行线性回归分析。根据线性回归分析，标准曲线的相关系数（ r ）的绝对值应 ≥ 0.980 。

4.6 批内精密度

动态法鲎试剂：取5支鲎试剂，每支做2个平行管，对于浓度为0.5EU/mL的细菌内毒素标准品溶液的反应时间，10个管的反应时间的变异系数(CV值)不得超过10%。

终点法鲎试剂：取5支鲎试剂，每支做2个平行管，对于标示检测限中间或中间附近浓度的细菌内毒素标准品溶液的反应终点吸光度值，10个管吸光度值的变异系数(CV值)不得超过10%。

4.7 准确度

检验鲎试剂标示检测范围的中点或靠近中点的内毒素浓度溶液，独立3次试验（同一批号不同时间进行），每次测定所得内毒素浓度相对于理论添加内毒素浓度的回收率，均应在50%至200%之间。

5 贮藏

避免阳光直射，不高于25°C保存或参照产品标识等相关说明保存。有效期不低于24个月。

参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部) [M]. 北京中国医药科技出版社,2025.
- [2] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 鲎试剂部标准[S]. 1991.
- [3] Food and Drug Administration. Reserved 21 CFR 660.103 Subpart K Limulus Amoebocyte Lysate[S]. 1996.
- [4] 杨宇希, 裴宇盛, 刘涛, 高华, 蔡彤. 检验用鲎试剂及重组试剂的现状与思考[J] 中国药物警戒,2024,21(08):847-851.