

## 对临床细菌内毒素检测的血清处理方法的探讨

陈晓佳, 李红玲, 林巧辉, 丁友玲 (福州新北生化工业有限公司, 福建福州 350101)

**摘要:** **目的** 对细菌内毒素检测试剂盒的不同血清处理方法进行探讨。**方法** 本文应用终点显色基质法细菌内毒素检测试剂, 分别用高氯酸法、碱试剂法、新高氯酸法、高温稀释法对 10 名健康志愿者的血清中外加内毒素回收实验, 计算回收率并进行统计分析。**结果** 新高氯酸法回收率在 65 % - 82 %, 比高氯酸法回收率 (56 % - 72 %) 回收率有所提高, 高温稀释法回收率在 138 % - 162 %, 碱试剂法回收率在 99 % - 103 % 区间, 碱试剂回收率最理想, 其他三种方法回收率稍差, 但也均在一般实验要求的范围内 (50 % - 200 %)。四种血清处理方法在同一外加内毒素浓度回收率具有极显著差异 ( $P < 0.01$ )。除了碱试剂法, 其他三种方法在外加不同内毒素回收率时具有显著差异 ( $P < 0.01$ )。**结论** 对于终点显色法细菌内毒素检测试剂盒, 选用碱试剂法处理血清对于细菌内毒素的回收率好, 稳定性良好, 检测结果的准确性高。我们首选碱试剂法作为细菌内毒素检测试剂盒 (终点显色基质法) 的所用血清的处理方法。其它方法备参考。

**关键词** 细菌内毒素; 终点显色基质法; 试剂; 血清处理方法; 回收率

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

CHEN, Xiao-jia, LI, Hong-ling, LIN, Qiao-hui, DING, You-ling (Fuzhou Xinbei Biochemical Industrial Co., Ltd, Fuzhou, Fujian, 350101)

**Abstract:** **Objective** To evaluate four types of serum treatment methods for clinical bacterial endotoxin test. **Methods** In this research, End-Point Chromogenic Bacterial Endotoxin Detection kit was used in clinical endotoxin detection. Perchloric Acid method, Alkali method, Advanced Perchloric Acid method and High-Temperature Dilution method was used in serum treatment respectively. Serum samples from ten health people were spiked with endotoxin and percentage spike recovery was determined. Spike recoveries were compared among four serum treatment methods. **Results** The spike recovery of the Advanced Perchloric Acid method was 65 % - 82 %, higher than the Perchloric Acid method (56 % - 72 %); the spike recovery of the High-Temperature dilution method was 138 % - 162 %; the spike recovery of the Alkali method was the most ideal one, which was 99 % - 103 %, close to 100 %. Although the other three methods were not as ideal as the Alkali method, the spike recovery between 50% and 200% is considered valid according to industry guidance. Spike recoveries were significantly different among four serum treatment methods. Unlike Alkali method,

Perchloric Acid method, Advanced Perchloric Acid method and High-Temperature Dilution method had significant difference in spike recoveries when different concentrations of spiked endotoxin were added to the samples. **Conclusions** For clinical End-Point Chromogenic Bacterial Endotoxin Detection Kit, using Alkali method as serum treatment results in greater accuracy and consistency.

**Key words:** bacterial endotoxin; End-Point chromogenic; TAL; Serum treatment method; spike recovery.

细菌内毒素是革兰氏阴性细菌细胞壁上一种特殊的组成成分,是临床上革兰氏阴性菌感染的重要监测指标。随着检测技术与研究方法的更新发展,细菌内毒素检测方法向分子方向发展,如微波频谱测定、快速高通量环境电离质谱(MS)方法、罗氏蛋白染色法、碘同位素标记法、内毒素生物传感器、重组C因子法<sup>[1-4]</sup>等。但是,由于临床上革兰氏阴性菌感染的监测具有多频性、连续性等特点,新兴的细菌内毒素检测方法价格昂贵或仍处于实验室的研究阶段,还未能运用于临床检测。而鲎试验自从90年代开始在临床上运用于细菌内毒素检测<sup>[4]</sup>,对于许多临床科室革兰氏阴性菌感染的诊断有重要指导意义<sup>[5-9]</sup>。检测也从早期的定性检测发展到定量检测,目前在定量鲎试剂的发展中又演变出终点显色法、动态浊度法、动态显色法,同时,在定量鲎试剂反应中对干扰物质预处理方法的不同形成碱试剂法、高氯酸法、新高氯酸法、高温稀释法<sup>[10,11]</sup>。对于不同方法学及血液处理方法,国内外均有相关报道<sup>[11-13]</sup>。

终点显色基质法细菌内毒素检测试剂盒的原理是利用蛋白多肽显色基质能被鲎试剂中凝固酶原水解,释放出pNA显色基团,利用偶氮化反应,在545nm波长处测定吸收峰,从而计算细菌内毒素含量<sup>[14]</sup>。临床上用细菌内毒素检测试剂盒(终点显色基质法)检测人血清中细菌内毒素含量,以诊断革兰氏阴性细菌感染疾病<sup>[15]</sup>。由于其灵敏度高,可定量,目前在临床得到广泛应用<sup>[16]</sup>。由于本试剂盒的主试剂是鲎试剂,是用鲎血细胞溶体物而制备成的,主要成份是多种丝氨酸蛋白酶的混合物。但是,人血清中存在许多蛋白酶、凝血因子、球蛋白等因子,对鲎试剂与细菌内毒素的反应(即鲎试剂由于内毒素作用激活鲎试剂中丝氨酸蛋白酶的逐级水解反应<sup>[17]</sup>)起到干扰作用。从而影响结果的准确性。因此,我们对血清处理方法进行探讨选择最佳血清处理方法,利用终点显色基质法细菌内毒素检测试剂盒对人血清预处理方法进行三组不同浓度的血清外加内毒素回收实验

的比较,以得到最理想的血清处理法,保证试剂盒检测临床样本的准确性、稳定性。

## 1 材料和方法

1.1 血清材料 选用 10 名健康志愿者血清样本。样品采集过程要求无菌操作,用不加任何抗凝剂真空采血管。

1.2 试剂与仪器 细菌内毒素检测试剂盒(终点显色基质法)(生产厂家:福州新北生化工业有限公司,批号:16080132,该批试剂标准曲线为  $y = 1.6137x + 0.0692$ ,  $r = 0.99$ ,其中  $y$  为样品测定所读取的 OD 值,  $x$  为样品中细菌内毒素含量)、细菌内毒素国家标准品(批号:200707,规格:10000 EU,中国药品生物制品检定所)、0.74 mol/L 高氯酸、0.48 mol/L 氢氧化钠、碱试剂(NaOH 0.08 mol/L, NaCl 0.15 mol/L、双甘氨酸 0.03 mol/L、乙撑亚胺 0.03 mol/L、CaCl<sub>2</sub> 0.01 mol/L、MgCl<sub>2</sub> 0.05 mol/L、曲拉通 0.003 mol/L、聚戊二烯 0.3 mol/L)、缓冲液(Tris-HCl/pH= 6.0、pH= 8.0)、细菌内毒素检查用水(生产厂家: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 < 0.005 EU/mL)

主要仪器:SM800 型酶标仪(上海永创,含有 545 nm 滤光片)、加热恒温混匀仪(上海永创 I-MixHot 100)、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应无菌无热原处理。

## 2 方法与结果

2.1 血清样本准备 10 名健康志愿者用无热原无添加剂采血管采集静脉血,每人采集 4 管,每管约 4 mL。样本采集后应半小时内,离心半径 4 cm, 3000 r/min 离心 5 min,取上层血清。每管血清分装成 4 管,每管 90  $\mu$ L,编为一组。样本 4 h 内检测完。若当日不能及时检测样本应将离心后血浆转移至无热原采血管内 2-8  $^{\circ}$ C 保存 72 h 内使用。-20  $^{\circ}$ C 以下冷冻保存,6 个月内使用。

2.2 血清添加内毒素 每组血清样本(4 管,每管 90  $\mu$ L),其中一支加入 10 EU/mL 的细菌内毒素国家标准品溶液 10  $\mu$ L,最终浓度 1 EU/mL(血清①);一支加入 5 EU/mL 的细菌内毒素国家标准品溶液 10  $\mu$ L,最终浓度 0.5 EU/mL(血清②);一支加入 2.5 EU/mL 的细菌内毒素国家标准品溶液 10  $\mu$ L,最终浓度 0.25 EU/mL(血清③);一支加入 10  $\mu$ L 细菌内毒素检测用水,作为空白

对照（为血清 0）；

## 2.3 血清的处理及结果计算

**2.3.1 高氯酸法** 取血清（未添加内毒素的空白对照血清 0）及以上添加细菌内毒素血清①、血清②、血清③各 50  $\mu\text{L}$  于无热原空安瓿中，每管加入 0.32 mol/L  $\text{HClO}_4$  200  $\mu\text{L}$ ，加热恒温混匀仪上 37  $^\circ\text{C}$  孵育 20 min 后，离心半径 4 cm，3000 r/min 离心 10 min，再加入 0.18 mol/L NaOH 250  $\mu\text{L}$ 。取 50  $\mu\text{L}$  上清液至无热原空安瓿中，加入 50  $\mu\text{L}$  主试剂，做两支平行管，加热恒温混匀仪上 37  $^\circ\text{C}$  孵育 30 min，偶氮化反应后，酶标仪  $A_{545}$  测定 OD 值，取平均值计算细菌内毒素含量（注：被测样本为原液稀释 10 倍）及回收率。

**2.3.2 新高氯酸法** 取血清（未添加内毒素的空白对照血清 0）及以上添加细菌内毒素血清①、血清②、血清③各 50  $\mu\text{L}$  于无热原空安瓿中，每管加入 0.18 mol/L NaOH 100  $\mu\text{L}$ ，加热恒温混匀仪上 37  $^\circ\text{C}$  孵育 5 min，加入 0.32 mol/L  $\text{HClO}_4$  100  $\mu\text{L}$ ，加热恒温混匀仪上 37  $^\circ\text{C}$  孵育 10 min，继而加入 0.18 mol/L NaOH 100  $\mu\text{L}$ ，0.2 mol/L Tris-HCl (pH=8.0) 150  $\mu\text{L}$ ，3000 rpm 离心 10 min。取 50  $\mu\text{L}$  上清液至无热原空安瓿中，加入 50  $\mu\text{L}$  主试剂，做两支平行管，加热恒温混匀仪上 37  $^\circ\text{C}$  孵育 30 min，偶氮化反应后，酶标仪  $A_{545}$  测定 OD 值，取平均值计算细菌内毒素含量（注：被测样本为原液稀释 10 倍）及回收率。

**2.3.3 碱试剂法** 取血清（未添加内毒素的空白对照血清 0）及以上添加细菌内毒素血清①、血清②、血清③各 50  $\mu\text{L}$  于无热原空安瓿中，每管加入 200  $\mu\text{L}$  碱试剂，加热恒温混匀仪 37  $^\circ\text{C}$  孵育 10 min，再加入 250  $\mu\text{L}$  缓冲液（0.2 mol/L，pH = 6.0）。取 50  $\mu\text{L}$  上清液至无热原空安瓿中，加入 50  $\mu\text{L}$  主试剂，做两支平行管，加热恒温混匀仪上 37  $^\circ\text{C}$  孵育 30 min，偶氮化反应后，酶标仪  $A_{545}$  测定 OD 值，取平均值计算细菌内毒素含量（注：被测样本为原液稀释 10 倍），及回收率。

**2.3.4 高温稀释法** 取血清（未添加内毒素的空白对照血清 0）及以上添加细菌内毒素血清①、血清②、血清③各 100  $\mu\text{L}$  于无热原空安瓿中，每管加入 900  $\mu\text{L}$  细菌内毒素检查用水，加热恒温混匀仪 75  $^\circ\text{C}$  孵育 10 min。取 50  $\mu\text{L}$  上清液至无热原空安瓿中，加入 50  $\mu\text{L}$  主试剂，做两支平行管，加热恒温混匀仪上 37  $^\circ\text{C}$  孵育 30 min，偶氮化反应后，酶标仪  $A_{545}$  测定 OD 值，取平均值计算细菌内毒素

含量（注：被测样本为原液稀释 10 倍）及回收率。

## 2.4 结果

外加不同浓度内毒素的同一志愿者血清样本及空白对照不同血清处理方法处理后，记录测量结果。

2.4.1 四种血清处理方法回收率结果 根据 10 名志愿者的结果计算吸光值、细菌内毒素及回收率的平均值及标准方差。结果见表 1：

表 1 四种血清预处理方法的检测结果

	空白对照			外加细菌内毒素最终浓度为 1 Eu / mL			外加细菌内毒素最终浓度为 0.5EU/mL			外加细菌内毒素最终浓度为 0.25 EU/mL		
	$A_{415}$ OD 值	内毒素含量 (EU/mL)	回收率 (%)	$A_{415}$ OD 值	内毒素含量 (EU/mL)	回收率 (%)	$A_{415}$ OD 值	内毒素含量 (EU/mL)	回收率 (%)	$A_{415}$ OD 值	内毒素含量 (EU/mL)	回收率 (%)
高氯酸法 (n=10)	0.091 ±0.001	0.138 ±0.008	71.8 ±0.9	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	82.0 ±1.0	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	102.3 ±0.9	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	161.7 ±3.34	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 四种血清预处理方法回收率比较 根据单因素方差分析 Tukey 法统计结果显示，对于每组外加内毒素浓度 1.0 Eu/mL、0.5 Eu/mL、0.25 Eu/mL 的样本，四种血清处理方法的回收率具有极显著差异 (P<0.01)，结果见表 2：

表 2 同一外加内毒素浓度不同血清预处理方法回收率比较

因变数 (外加内毒素浓度)	方法 (I)	方法 (J)	平均差异 (I-J)	显著性 (P)	95% 置信区间	
					下限	上限
1.0 Eu/ml	高氯酸法	新高氯酸法	-10.10000*	.000	-12.4089	-7.7911
		碱试剂	-30.30000*	.000	-32.6089	-27.9911
		高温稀释法	-89.70000*	.000	-92.0089	-87.3911
	新高氯酸法	碱试剂	-20.20000*	.000	-22.5089	-17.8911
		高温稀释法	-79.60000*	.000	-81.9089	-77.2911
		碱试剂	-59.40000*	.000	-61.7089	-57.0911
0.5 Eu/ml	高氯酸法	新高氯酸法	-10.30000*	.000	-13.0213	-7.5787
		碱试剂	-36.00000*	.000	-38.7213	-33.2787
		高温稀释法	-85.10000*	.000	-87.8213	-82.3787
	新高氯酸法	碱试剂	-25.70000*	.000	-28.4213	-22.9787
		高温稀释法	-74.80000*	.000	-77.5213	-72.0787
		碱试剂	-49.10000*	.000	-51.8213	-46.3787
0.25 Eu/ml	高氯酸法	新高氯酸法	-9.70000*	.000	-15.4086	-3.9914
		碱试剂	-47.30000*	.000	-53.0086	-41.5914
		高温稀释法	-81.70000*	.000	-87.4086	-75.9914
	新高氯酸法	碱试剂	-37.60000*	.000	-43.3086	-31.8914
		高温稀释法	-72.00000*	.000	-77.7086	-66.2914
		碱试剂	-34.40000*	.000	-40.1086	-28.6914

\*平均值差异在 0.05 层级显著

同种血清处理方法中，比较血清外加内毒素浓度 1.0 Eu/mL、0.5 Eu/mL、0.25 Eu/mL 的回收率时，除了碱试剂法没有显著差异外 ( $P>0.05$ )，其余三种方法均存在极显著差异 ( $P<0.01$ )，结果见表 3：

表 3 同一血清预处理方法在不同外加内毒素浓度回收率比较

因变数	外加内毒素 (Eu/ml) (I)	外加内毒素 (Eu/ml) (J)	平均差异 (I-J)	显著性 (P)	95% 信賴區間	
					下限	上限
高氯酸法	1	0.5	7.00000*	.000	3.4381	10.5619
		0.25	15.90000*	.000	12.3381	19.4619
	0.5	0.25	8.90000*	.000	5.3381	12.4619
新高氯酸法	1	0.5	6.80000*	.001	2.7102	10.8898
		0.25	16.30000*	.000	12.2102	20.3898
	0.5	0.25	9.50000*	.000	5.4102	13.5898
碱试剂法	1	0.5	1.30000	.789	-1.6019	4.2019
		0.25	-1.10000	1.000	-4.0019	1.8019
高温稀释法	1	0.5	11.60000*	.000	8.0401	15.1599
		0.25	23.90000*	.000	20.3401	27.4599
	0.5	0.25	12.30000*	.000	8.7401	15.8599

\*平均值差异在0.05层级显著

由表 3 可得，碱试剂法在终点显色基质法试剂盒上运用，回收率具有可靠的稳定性能。而高氯酸法、新高氯酸法、高温稀释法作为终点显色基质法试剂盒血液处理方法，在同种方法不同的三组外加内毒素浓度血清中回收率具有相当大的差别，稳定性不如碱试剂法。

因此，碱试剂法与高氯酸法、新高氯酸法、高温稀释法对外加内毒素浓度的回收率效果存在明显的差异，碱试剂法回收率在 100% 略微波动，数值较为理想，且碱试剂法在三组血清中外加不同浓度的内毒素回收率不具有显著性差异 ( $P>0.05$ )，稳定性能良好。可得碱试剂法更符合终点显色基质法的预处理方法需求。

### 3. 讨论

感染性疾病是困扰人类健康的一大难题，临床上感染种类主要有：革兰氏阴性菌感染、真菌感染、阳性菌感染、病毒感染和寄生虫感染。全国每年感染患者 2 亿人次，其中革兰氏阴性菌感染占了很大的比例。革兰氏阴性菌细胞壁主要成分为脂多糖（细菌内毒素），大部分患者在革兰氏阴性细菌感染后，能从血液中检出细菌内毒素<sup>[18]</sup>。

细菌内毒素除了引起发热外还有血管扩张、血管通透性增加、中粒性细胞增

多、补体激活、血压下降等现象，内毒素血症可以引起机体微循环障碍、急性肺损伤、急性呼吸窘迫综合征（ARDS）、弥散性血管内凝血（DIC）、休克、全身炎症反应综合征（SIRS）<sup>[19,20]</sup>等，其中全身炎症反应综合征可能诱发多脏器功能障碍综合征（MODS）与多脏器功能衰竭（MOF），也易导致继发性感染情况的发生形成恶性循环，加重感染者病情。若患者存在革兰氏阴性菌感染，血液中会存在大量的细菌内毒素，因此根据血液中细菌内毒素的含量可间接判断患者是否受到革兰氏阴性菌感染<sup>[19]</sup>。内毒素的检测利于初步区别病毒感染和细菌感染，尤其在早期诊断革兰氏阴性菌感染。目前血培养和鉴定是菌血症病原诊断学的“金标准”，但血培养通常需要 3d 时间才能得出结果且灵敏度低，少数病原菌甚至需要更长时间，而内毒素水平监测具有更快捷、更易操作的优势，在标本送检数小时后即可获得检测结果，指导临床对革兰氏阴性菌感染病人的早期诊断<sup>[21]</sup>与合理用药提供理论依据。早期对革兰氏阴性菌诊断在临床上具有重要意义<sup>[22]</sup>。

内毒素的检测中会受限于人血清中存在许多蛋白酶、凝血因子、球蛋白等因子，这些物质对试剂中的凝固因子的逐级反应具有干扰作用，影响了测定结果，因此必须对血清样本进行预处理，而预处理的回收率效果将直接影响内毒素的检出率。根据本试验结果得出，四种血清处理方法在同一外加内毒素浓度的回收率均具有极显著差异（ $P < 0.01$ ）。高氯酸处理外加内毒素血清的回收率（56 % - 72 %）与新高氯酸法处理外加内毒素血清的回收率（65 % - 82 %），两者虽均符合一般实验回收率标准（50 % - 200 %）<sup>[23]</sup>，但不够理想，且两者在各自方法三个不同外加内毒素浓度的组内回收率均具有极显著差异（ $P < 0.01$ ）。这是由于两者处理血清样本过程中，由于强酸性不同程度上破坏了内毒素的化学结构<sup>[24]</sup>，从而降低了细菌内毒素检出值，影响回收率。而且前者只测定血液中游离的内毒素，而后者同时还测定了和蛋白结合的内毒素。

高温稀释法处理外加内毒素血清的回收率（138 % - 162 %）值偏高，由于高温稀释法预处理血液后，会出现白浊现象对酶标仪光学测量产生干扰，影响测量结果使回收率增高，在临床检测中假阳性几率增大。该方法在三种外加内毒素浓度的回收率具有极显著差异（ $P < 0.01$ ），可见其回收率的效果具有不稳定性。

碱试剂法处理外加内毒素血清的回收率（99 % - 103 %），符合实验回收率标准（50 % - 200 %），效果较理想。主要是由于碱试剂配方中的各种成分作

用，能有效的去除血清中存在许多蛋白酶、凝血因子、球蛋白，最大程度降低这些蛋白酶干扰鲎试剂试验；同时采用的稳定剂及表明活性剂对鲎试剂也起到保护作用，大力提高了鲎试剂抗干扰能力。且该方法在三组外加不同浓度内毒素的组间回收率不具有极显著性（ $P>0.05$ ），可见其对回收率的效果具有稳定性。

因此，碱试剂法对内毒素的回收率最佳，其他三种方法回收率虽然不如碱试剂法，但也均符合一般鲎实验回收率标准（50 % - 200 %）。若检验结果的回收率与 100 % 偏差过多或回收率不具有稳定性，既容易在检测过程中出现假阳性、假阴性或重复性差的现象，造成误判、难判。根据以上实验，我们首选碱试剂法作为细菌内毒素检测试剂盒（终点显色基质法）的所用血清的处理方法。

#### 4 参考文献

- [1] Elsayeh M, Kandil A H. Ultra Wide Band Based Quantitative and Qualitative Method for Bacterial Endotoxin Detection[J]. Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy, 2015, 49(1): 11-20.
- [2] Li H, Hitchins V M, Wickramasekara S. Rapid detection of bacterial endotoxins in ophthalmic viscosurgical device materials by direct analysis in real time mass spectrometry[J]. Analytica chimica acta, 2016, 943: 98-105.
- [3] 易喻, 王敏君, 梅建凤, 等. 细菌内毒素电化学传感器的构建及性能表征[J]. 中国生物工程杂志, 2017, 37(8): 46-50.
- [4] 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.
- [5] 周洪兴, 赵文杰, 张平, 等. 尿液内毒素定量检测对泌尿系统革兰氏阴性菌感染的诊断价值研究[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(4): 441 - 442.
- [6] 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.
- [7] 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]. 当代医药论从, 2017, 15(6): 41-42.
- [8] 黄贤贵, 杨彤, 余洪立, 等. 儿童革兰氏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.
- [9] 庞伟, 张晓伟. 降钙素原、内毒素检测和 G 试验在 ICU 感染性发热患者检测中的临床意义[J]. 实用检验医师杂志, 2016, 8(3): 133-137.
- [10] 稻田捷也, 铃木美幸. 血中内毒素浓度测定法 [J]. 日本细菌学杂志, 1990, 45: 937-942.
- [11] 廖招连, 丁友玲. 显色基质鲨试剂 (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]. 福建药学会杂志, 2005, 27 (4) : 119-121.
- [12] Wong J, Vilar E and Farrington K. Endotoxemia in end-stage kidney disease[J]. Semin Dial. 2015, 28(1): 59-67.
- [13] Wong J, Davies N, Jeraj H, et al. A comparative study of blood endotoxin detection in haemodialysis patients[J]. Journal of Inflammation, 2016, 13(1): 24-33
- [14] 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]. Thrombosis Research, 1981, 23, (1-2): 51-57.
- [15] Obayashi T, Tamura H, Tanaka S, et al. A new chromogenic endotoxin-specific assay using Limulus coagulation enzymes and its clinical application [J]. Clinica Chimica Acta 1985, 149: 55-65.
- [16] Tamura H, Tanaka S, Obayashi T, et al. A new sensitive method for determining endotoxin in whole blood [J]. Clinica Chimica Acta, 1991, 200: 35-42.
- [17] Levin J, BANG FB. Clottable protein in Limulus; its localization and kinetics of its coagulation by endotoxin [J]. Thromb Diath Haemorrh. 1968, 19: 186-197.
- [18] Van den Bruel A, Thompson M J, Haj-Hassan T, et al. Diagnostic value of laboratory tests in identifying serious infections in febrile children: systematic review[J]. Bmj, 2011, 342: d3082.
- [19] 史利克, 王黎一, 郭璐, 等. 124 例感染患者血浆内毒素检测结果分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(18): 4125-4127.
- [20] Sekine S, Imaizumi H, Masumoto K, et al. Usefulness of endotoxin activity assay for early diagnosis of sepsis[J]. Critical Care, 2015, 19(1): P49.
- [21] 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 11 (33) : 20-23.
- [22] Kang M, Tsunoda M, Saito M, et al. Early diagnosis of sepsis due to Gram-negative infection

with the Endotoxin Activity Assay[J]. *Critical Care*, 2014, 18(2): P74.

[23] 国家药典委员会 中国药典[Z] 2015-6-5.

[24] 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.