

内毒素分析指南

简介

内毒素为革兰氏阴性菌中存在的毒性物质的总称，是革兰氏阴性细菌细胞壁中的一种成分，叫做脂多糖。由菌体裂解后释出的毒素，又称之为“热原”，单位 **Eu/ml**。其毒性成分主要为类脂质 **A**。内毒素位于细胞壁的外层、覆盖于细胞壁的黏肽上。各种细菌的内毒素的毒性作用较弱，大致相同，可引起发热、微循环障碍、内毒素休克及播散性血管内凝血等

内毒素不是蛋白质，耐热且稳定。只有在 **160℃** 的温度下加热 **2 到 4 小时**，或用强碱、强酸或强氧化剂加温煮沸 **30 分钟** 才能破坏生物活性。内毒素不能被稀甲醛溶液脱去毒性成为类毒素；内毒素可刺激机体产生抗体，但无中和作用，形成抗毒素。

区别要点	外毒素	内毒素
产生菌	多数革兰氏阳性菌，少数革兰氏阴性菌	多数革兰氏阴性菌，少数为革兰氏阳性
存在部位	多数活菌分泌出，少数菌裂解后释出	细胞壁组分，细胞的生长、分裂、解体和死亡都会向外环境释放
化学成分	蛋白质	脂多糖
毒性作用	强，对组织细胞有选择性毒害效应，引起特殊临床表现	较弱，各种类的毒性效应相似，引起发热、白细胞增多、微循环障碍、休克等
免疫原性	强，刺激宿主产生抗毒素	较弱，甲醛液处理后不形成类毒素
稳定性	60℃ 半小时被破坏	160℃ 2-4 小时被破坏
处理方式	特定抗生素治疗为主	消炎药物、抗氧化剂治疗为主

检测原理

终点浊度法和动态浊度法都属于浊度法。浊度法利用检测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。动态浊度法（又称动态比浊法）是检测反应混合物的浊度上升某一预先设定的吸光度所需要的反应时间，或是检测浊度增加速度的方法。

终点显色法和动态显色法都是属于显色基质法。显色基质法系利用鲎试剂与内毒素反应过程中产生的凝固酶使特定底物显色释放出的呈色团的多少而测定内毒素含量的方法,根据产物颜色判断内毒素浓度,又称为比色法。

样品要求

样品 pH 值在 7-9 范围内;

缓冲液必须经过验证不含内毒素和干扰因子;

0.1M 的氢氧化钠或 0.1M 盐酸来调节离子调节样品离子浓度;

定量检测用细菌内毒素检查用水,其内毒素含量应小于 0.005EU/ml。

注意事项

鲎试剂是一种生物试剂,建议进行内毒素检测时进行复核;

内毒素检测时稀释所用的仪器不能交叉反复使用;

严格控制内毒素检测时的反应温度和时间;

鲎试剂应该在低温下保存,虽然在温热的条件下鲎试剂还是相对比较稳定的,但是需要避免长时间的置于在高于 25℃ 的温度条件下。在内毒素检测时用的鲎试剂一般只能冻融一次,复溶的鲎试剂需存放在 2-8℃ 的冰箱内或-20℃ 以下保存。

技术应用

细菌内毒素具有多种生物学活性,微量的内毒素进入机体将会出现发热、血压降低、寒颤、引起 DIC、内毒素败血症等一系列临床反应,因此内毒素快速定量检测,对临床对症治疗具有很深的现实意义。

①内毒素检测不仅有助于鉴别是否为细菌感染,尤其是对于革兰阴性杆菌感染具有重要的参考价值,还能提示感染严重程度,可用于发热原因的快速辅助诊断。内毒素检测对革兰阴性菌菌血症的诊断价值与细菌种类有关,内毒素检测结果与革兰阴性菌菌血症诊断之间的一致性偏低。

②有利于临床及早诊治疾病,为选择用药提供一定理论依据,对病情进行动态监测,对给药后的疗效及预后判断具有重大意义。内毒素检测还可用于评估疾病进展和患者预后,疾病恶化往往伴随内毒素水平升高,疾病缓解也常伴随内毒素水平降低。内毒素水平持续升高常提示患者预后不良。

③用于血液透析液的监测,对于治疗效果和患者安全有着重要作用。

参考文献

- [1]吴杨, 赵云燕. 细菌内毒素检查法的应用进展[J]. 安徽医药, 2004, 8(3):3.
- [2]王丽莉, 吕文博. 加压素细菌内毒素分析方法学[J]. 科技创新与应用, 2014(17):1.
- [3]裴宇盛, 陈晨, 赵小燕, 等. 非水溶性样品用的细菌内毒素标准品的研制[J]. 中国药理学通报, 2022, 38(6):5.
- [4]冯正录, 陈慧玲, 吕文柏. 细菌内毒素检查异常结果分析及处理方法[J]. 中国药师, 2006(6):568-569.