



中华人民共和国国家标准

GB/T 41309—2022/ISO 29701:2010

纳米技术 纳米材料的内毒素 体外测试 鲎试剂法

Nanotechnologies—Endotoxin test on nanomaterial samples for in vitro
systems—*Limulus* amoebocyte lysate (LAL) test

(ISO 29701:2010, IDT)

2022-03-09 发布

2022-10-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
纳 米 技 术 纳 米 材 料 的 内 毒 素
体 外 测 试 鲎 试 剂 法
GB/T 41309—2022/ISO 29701:2010

*

中 国 标 准 出 版 社 出 版 发 行
北 京 市 朝 阳 区 和 平 里 西 街 甲 2 号 (100029)
北 京 市 西 城 区 三 里 河 北 街 16 号 (100045)

网 址 : www.spc.org.cn

服 务 热 线 : 400-168-0010

2022 年 3 月 第 一 版

*

书 号 : 155066 · 1-69249

版 权 专 有 侵 权 必 究

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。

本文件等同采用 ISO 29701:2010《纳米技术 纳米材料的内毒素体外测试 鲎试剂法》。

本文件增加了“规范性引用文件”一章。

请注意本文件的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。

本文件由中国科学院提出。

本文件由全国纳米技术标准化技术委员会(SAC/TC 279)归口。

本文件起草单位：中国医学科学院基础医学研究所、北京大学、首都医科大学、中国食品药品检定研究院、苏州大学。

本文件主要起草人：孟洁、温涛、许海燕、贾光、孙志伟、徐丽明、陈丹丹、王杨云。

引 言

内毒素(脂多糖 LPS)是革兰氏阴性细菌,如大肠杆菌、沙门氏菌、志贺氏菌、假单胞菌、奈瑟球菌和嗜血杆菌等细胞壁外膜的一部分。内毒素可引起包括人在内的哺乳动物的各种全身反应,例如发热、弥散性血管内凝血、低血压、休克和死亡。这些反应由多种细胞因子、补体系统和凝血系统级联激活等介导。日常环境中也存在内毒素。纳米材料的体外和体内测试体系中,大多数测试都要经过多种制备过程;制备时需要特别小心,否则内毒素很有可能会污染纳米材料。

为了纳米材料的毒性筛查、生物相容性测试、研究纳米材料导致的毒性机理,开发和使用了多种基于细胞的体外测试系统和动物模型。其中,作为体内主要监视细胞的巨噬细胞和其他相关哺乳动物细胞,常用作测试细胞,这些细胞对内毒素具有高度反应性,难以区分反应是由内毒素还是纳米材料引起的。因此,内毒素的污染会干扰体外试验的结果。

在准备待测样品时遵循适当的预防措施,可减少内毒素污染。为尽量减少内毒素的污染或确定测试样品中不显著的内毒素,需要对内毒素进行初步检测。为了充分解释体外生物测试系统中获得的数据,量化内毒素水平也非常重要。

内毒素也可能会污染非肠道途径应用的医疗器械和药物,因此已经开发出定量和半定量测定方法,对体内和体外内毒素进行检测,用于监管及对纳米材料相关实验室操作程序进行标准化(见参考文献[6])。使用鲎试剂(LAL)检测细菌内毒素已被开发为一种体外检测方法,可测试内毒素污染的存在;鲎试剂法作为兔热原检测的一种替代方法,在许多国家的药典中都有描述。

本文件提供了体外生物测试时利用鲎试剂(LAL)检测纳米材料样品的注意事项。

纳米技术 纳米材料的内毒素 体外测试 鲎试剂法

1 范围

本文件描述了应用鲎试剂法(LAL)评价体外生物系统应用的纳米材料的内毒素水平。该测试方法适用于检测分散在水、血清或反应液等水性溶液中的纳米材料,这些介质可与纳米材料在 37 °C 孵育一定时间。

本文件适用于体外样品的检测,同时这些方法也适用于通过非胃肠道途径应用到动物体内的纳米材料。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

凝固蛋白原 **coagulogen**

LAL 试剂中可凝固的蛋白,在内毒素引起的凝胶形成中发挥首要作用。

注:来源于日本鲎(*Tachypleus tridentatus*)凝固蛋白原含有 175 个氨基酸,分子量为 19 723(见参考文献[7])。

3.2

凝固蛋白 **coagulin**

凝固蛋白原被 LAL 试剂中的凝固蛋白酶酶解后的产物。

注:来源于日本鲎(*Tachypleus tridentatus*)凝固蛋白含有 N 末端片段(丙氨酸 1-精氨酸 18)和 C 末端片段(甘氨酸 47-苯丙氨酸 175)(见参考文献[7])。

3.3

内毒素 **endotoxin**

革兰氏阴性菌细胞壁外部成分的一部分。

注:主要的活性成分是脂多糖(LPS)。

3.4

内毒素单位 **endotoxin unit**

EU

内毒素活性的标准单位。

注 1:根据世界卫生组织(WHO)生物标准化专家委员会(ECBS)1996 年制定的内毒素单位定义,0.1 ng 大肠杆菌 0113:HK10:K(-)来源的 WHO 内毒素参考标准品(RSE)的活性为 10 EU/ng(见参考文献[8])。

注 2:EU 等同于内毒素的国际单位(IU)。

3.5

拉姆达 **lambda**

λ