



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1939—2024

医疗器械细菌内毒素试验方法 重组 C 因子法

Test for bacterial endotoxins of medical devices—Recombinant factor C method

2024-07-08 发布

2025-07-20 实施

国家药品监督管理局 发布

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。

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。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国医疗器械生物学评价标准化技术委员会(SAC/TC 248)归口。

本文件起草单位：山东省医疗器械和药品包装检验研究院、中国食品药品检定研究院、辽宁省医疗器械检验检测院。

本文件主要起草人：孙令骁、邵安良、余洋、秦越、王小蕾、王诗琪。

引 言

细菌内毒素是革兰氏阴性菌细胞壁的重要成分,通常由多糖 O 型抗原、核心低聚糖和类脂 A 组成,其中类脂 A 是内毒素的生物活性中心。从临床角度看,内毒素引起的脓毒症、脓毒性休克和多器官衰竭是死亡率较高的全身性疾病。在自然界中,革兰氏阴性菌广泛分布于水(江河和海洋)、空气、土壤和人体中,医疗器械制造过程中的高压蒸汽灭菌、辐照和气体灭菌能够杀灭细菌,但不能灭活内毒素。由于细菌内毒素广泛存在于自然界中,性质稳定并且可以穿透常规的除菌滤膜,因此很难预防细菌内毒素污染。

目前凝胶法和光度测定法是医疗器械细菌内毒素试验最主要的试验方法之一,该方法具有较高的灵敏性、特异性、准确性和经济性,但该方法需要使用大量的鲎血来生产鲎试剂,而东方鲎已成为我国的二级保护动物,因此继续推广使用凝胶法和光度测定法不利于鲎资源的保护和发展。重组 C 因子法是细菌内毒素检查法的一种补充方法,该方法的推广使用,可保护生态环境、减缓鲎资源枯竭速度,且本法不存在 G 因子旁路干扰,具有较高的专属性。

医疗器械细菌内毒素试验方法

重组 C 因子法

1 范围

本文件描述了利用重组 C 因子法检测医疗器械中细菌内毒素含量的试验方法。
本文件适用于对医疗器械进行细菌内毒素的检测。

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

C 因子 factor C

鲎试剂中一种对细菌内毒素敏感,且能选择性识别内毒素的蛋白。

3.2

重组 C 因子 recombinant factor C

鲎试剂中的 C 因子(3.1)通过基因重组技术在真核细胞中表达的重组蛋白。

4 试验原理

重组 C 因子法是利用重组 C 因子试剂与内毒素反应过程中的荧光信号变化而测定内毒素含量的方法,重组 C 因子与细菌内毒素结合后被激活,由无活性的蛋白酶原转变成具有生物活性的蛋白酶,识别并催化下游荧光底物产生荧光信号,荧光信号的强度和内毒素浓度成比例。分别测量重组 C 因子试剂和供试品溶液孵育前后的荧光值并校正,通过标准曲线计算出供试品中细菌内毒素的含量。

5 主要设备

荧光酶标仪或多功能酶标仪、电热干燥箱、旋涡混合器等。

6 试剂和材料

细菌内毒素国家标准品或细菌内毒素工作标准品(以下简称“内毒素标准品”)、重组 C 因子试剂盒、细菌内毒素检查用水、移液器、吸头、微孔板。

注 1: 重组 C 因子试剂盒中一般包括重组 C 因子酶溶液、荧光底物、缓冲液等试剂。

注 2: 试验所用耐热器具常用干热灭菌法,用电热干燥箱(250 °C、至少 30 min)去除可能存在的外源性内毒素;塑料器具如微孔板、与移液器配套的吸头等,选用标明无热原或内毒素含量 <0.005 EU/mL 的器具。