



De Endotoxinetest

Praktische uitvoering

Bert Rietdijk

Afdelingshoofd Farmaceutisch en
Toxicologisch Laboratorium
Ziekenhuis Rijnstate, Arnhem

Deel 2 – Vergelijkend onderzoek test-
methodieken

Inleiding

In het vorige artikel heb ik in het bijzonder stil gestaan bij de geschiedenis en de theoretische benadering van de endotoxinetest. Ook werd gekeken naar de veranderingen in de wetgeving en de consequenties die dat voor onze laboratoria heeft.

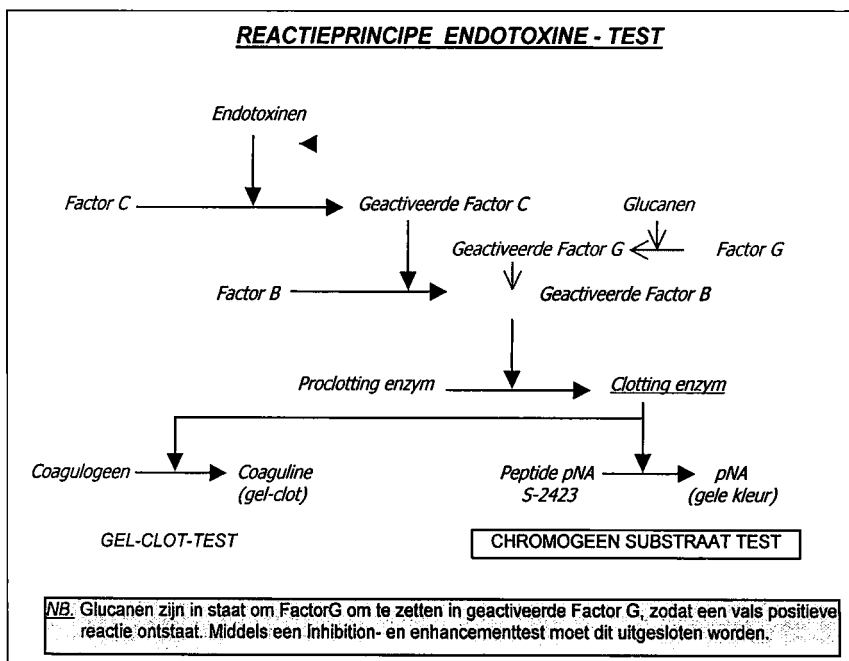
In dit artikel wil ik aandacht schenken aan de praktische uitvoering van de endotoxinetest. Welke testuitvoering verdient de voorkeur en waarom? Zijn er voordelen aan het uitvoeren van een kwantitatieve test boven een semi-kwantitatieve test, en zo ja, welke zijn dat dan? Wat zijn bij de uitvoering van de verschillende testen de punten waar je aandacht aan moet schenken als je deze wilt introduceren in je laboratorium?

De voor- en nadelen van de betreffende methodieken wil ik aan de hand van een vergelijkend onderzoek presenteren. Dit onderzoek heb ik uitgevoerd m.b.v. een drietal kwantitatieve testen en een tweetal semi-kwantitatieve testen die in Nederland verkrijgbaar zijn.

Op het FarmaToxLab van Ziekenhuis Rijnstate wordt de endotoxinetest al vele jaren, als gel-clot-test, uitgevoerd. De test wordt vooral gebruikt voor de analyse van watermonsters van onze eigen waterinstallatie en bij de keuring van farmaceutische producten (o.a. infuus oplossingen) die door onze productieafdeling bereid worden.

Toen ik net op dit laboratorium werkzaam was als afdelingshoofd kreeg ik het verzoek of wij ook in

Figuur 1: Principe endotoxinetest.



staat waren om hemodialysevloei-
stof te analyseren op afwezigheid
van endotoxinen. Deze vraag was de
aanleiding om onze endotoxinetest
weer eens onder de loop te nemen.
Daarnaast moesten we in de litera-
tuur duiken om te kijken wat er zoal
over de endotoxinetest van hemo-
dialysevloeistoffen beschreven was.

Plan van aanpak

Bij het onder de loop nemen van onze testuitvoering kwam al snel aan het licht dat wij de test niet conform de voorgeschreven methode uitvoerden. Zowel het oplossen van het LAL-reagens, als ook de incubatie van de testbuizen, gebeurde niet conform de voorgeschreven methode. In verband met deze geconstateerde afwijkingen in de testuitvoering is allereerst gekeken naar de mogelijkheden om deze afwijkingen te normaliseren conform de voorgeschreven testuitvoering van onze fabrikant/leverancier. Het correct oplossen van het LAL-reagens was eenvoudig te implementeren, het correct incuberen van de testbuizen was echter een

geheel ander verhaal. Dit was nog niet zo eenvoudig, door het simpele feit dat er binnen het laboratorium een tafelblad gevonden moest worden dat trillingsvrij was. Dit was de reden om eens te gaan kijken naar de introductie van een kwantitatieve test i.p.v. de tot nu toe gebruikelijke semi-kwantitatieve test. Voor de uitvoering van deze kwantitatieve testen is namelijk geen trillingsvrij tafelblad vereist.

Het reactieprincipe van beide testen is in principe hetzelfde (zie figuur 1), bij de kwantitatieve testen hoeft echter geen gel gevormd te worden (kan verstoord worden door trillingen), maar een gele kleur, waarvan de intensiteit een maat is voor de concentratie aan endotoxinen.

Er is gekeken naar de in Nederland gebruikte endotoxinetesten. De verschillende leveranciers/fabrikanten werden benaderd met het verzoek om reagentia beschikbaar te stellen voor een vergelijkend onderzoek. Het betrof de kwantitatieve test van BioWhittaker, Chromogenix en

Associates of Cape Cod en de semi-kwantitatieve test van BioWhittaker en Associates of Cape Cod. De producten van BioWhittaker worden geleverd door BioWhittaker, Chromogenix wordt geleverd door Nodia en Associates of Cape Cod wordt geleverd door de Duitse firma Pyroquant.

Om de vergelijking zo eerlijk en objectief mogelijk te laten verlopen zijn voor alle testen dezelfde vloeistoffen gebruikt als testmedium. Er is gebruik gemaakt van de volgende oplossingen:

- glucose 5% infuusoplossing
- natriumchloride 0,9% infuusoplossing
- water voor injectie (gebotteld)
- vers getapt water uit de RO-installatie (RO = Reversed Osmosis)
- monster uit een hemodialyse-apparaat
- QC-monster (B-2000) van de firma Acila

Dit laatste monster is een kwaliteitscontrole monster van de Duitse firma Acila die dit als een ringonderzoek in Duitsland rondstuurt. Met dit monster was, omdat de concentratie aan endotoxinen op het moment van onderzoek voor mij onbekend was, een geheel objectieve testuitvoering mogelijk.

Testopzet, kwantitatieve testen

De drie kwantitatieve methoden werden als eindpuntsmethode uitgevoerd (conform "Methode E" van de Europese Farmacopee). De methodiek van BioWhittaker en van Chromogenix zijn vrijwel identiek in uitvoering, terwijl de methodiek van Associates of Cape Cod iets afwijkt, omdat je hierbij één pipetteerstap minder hoeft uit te voeren.

De reagentiakitjes bevatten in principe de volgende onderdelen:

- een gevriesdroogd substraat
- een gevriesdroogd Controle Standaard Endotoxine (CSE)
- een gevriesdroogd LAL-reagens
- een flacon LAL-water of bufferoplossing

(LAL-water = endotoxine vrij water)
Per fabrikant zijn er kleine verschillen in de samenstelling van de reagentiakitjes.

Het gebruikte CSE was door iedere fabrikant gekalibreerd op het Referentie Standaard Endotoxine: EC-6 (= 10.000 EU/vial).

Het substraat

Chromogenix en BioWhittaker lossen het substraat en het LAL-reagens beide op in LAL-water, terwijl Associates of Cape Cod een gecombineerd LAL-substraat-reagens heeft en dit oplost in een meegeleverde bufferoplossing.

Ook Chromogenix maakt voor het bereiden van het substraat-werkoplossing gebruik van een bufferoplossing, voor gebruik moet het al in water opgeloste substraat nog 1:1 verdund worden met een bufferoplossing.

BioWhittaker geeft ook de mogelijkheid om het LAL-reagens in een bufferoplossing op te lossen, maar dit is niet standaard meegeleverd en moet apart aangeschaft worden. Het gecombineerde LAL-substraat reagens van Associates of Cape Cod is weer heel handig omdat dit een pipetteerstap scheelt in de hele procedure. Zeker als je de procedure handmatig (op tijd!) uitvoert dan is het verminderen van pipetteerstappen een zeer welkome zaak!

Het voordeel van het oplossen in een bufferoplossing is dat je bij de uiteindelijke analyse weinig tot geen last hebt van pH-effecten!

Het endotoxine

Het meegeleverde, gevriesdroogde, Controle Standaard Endotoxine verschilde nogal in concentratie en oplosbaarheid. Chromogenix leverde een CSE-preparaat dat opgelost moest worden met 3,9 ml LAL-water, dit leverde een oplossing op met een concentratie van 12 EU/ml. Bij Associates of Cape Cod moest het endotoxine opgelost worden in 2,0 ml LAL-water en dit leverde een oplossing op met een concentratie

van 1 EU/ml. BioWhittaker tenslotte loste het endotoxine op in 1,0 ml LAL-water en dit leverde een concentratie van 29 EU/ml op.

Na het toevoegen van het water moest de oplossing tussen de 3 en de 10 minuten gevortexd worden (waarbij de flacon ook op zijn kop op de vortex geplaatst moest worden).

Hoe hoger de eindconcentratie van de endotoxineoplossing is, hoe makkelijker het is om verschillende standaard- en spikeoplossingen te maken.

Het LAL-reagens

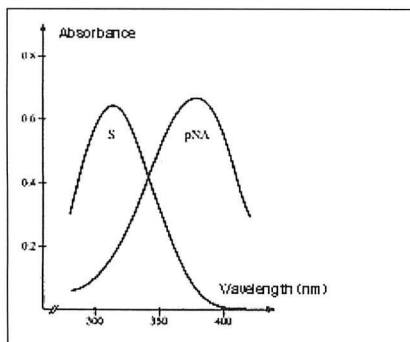
Het LAL-reagens moest bij Chromogenix en BioWhittaker met 1,4 ml LAL-water, vlak voor gebruik, opgelost worden. Het gecombineerde LAL-substraat reagens van Associates of Cape Cod moet met 3,2 ml bufferoplossing, eveneens vlak voor gebruik, opgelost worden en moet dan in een ijsbadje geplaatst worden!

Het LAL-reagens is het meest kritische reagens dat in de kit aanwezig is, behandel dit met de nodige voorzichtigheid, lees de oplosinstructies goed door!

Het spreekt voor zich dat de oplossingen en standaarden die we gebruiken bij de analyse bereid worden in endotoxinevrij glaswerk. Voor dit doel hebben wij gebruik gemaakt van onze standaard (verdunnings) testbuizen (13x100 mm, BioWhittaker art.nr. N207) en voor de analyse hebben we gebruik gemaakt van onze standaard testbuizen (10x75 mm, BioWhittaker art.nr. N201). Deze buizen zijn eveneens te verkrijgen bij Chromogenix (resp. art.nr. 821785 en art.nr. 821777) en bij Associates of Cape Cod (resp. art.nr. 5000012G en art.nr. 50010MKG).

Daar wij de eindpuntsmethodiek gingen uittesten moesten we zelf een azijnzuur 20% oplossing maken om de kleurreactie na een bepaalde tijd te stoppen. Deze oplossing werd

Figuur 2: UV maxima Substraat gebonden pNA en vrij pNA.



altijd vers bereid door 4 ml azijnzuur 100% te verdunnen tot 20 ml met RO-water.

Door de verschillende concentraties van de CSE-oplossingen maakt iedere fabrikant zijn eigen kalibratielijn (zie tabel I en figuur 2). Ook het aantal mee te nemen kalibratiepunten verschilt per fabrikant.

Het testprincipe is voor deze testmethodiek in principe gelijk. Er wordt een hoeveelheid monsteroplossing in een endotoxinevrije testbuis gepipetteerd, hieraan wordt een zelfde hoeveelheid LAL-reagens toegevoegd en in een later stadium nog een hoeveelheid substraat. Het geheel wordt geïncubeerd bij 37°C gedurende een bepaalde tijd. Hierna wordt een hoeveelheid azijnzuur 20% toegevoegd om de reactie te stoppen. De concentratie aan endotoxine is nu af te lezen bij 405 nm (een gele kleur duidt op de aanwezigheid van endotoxinen).

Doordat alle pipetteerstappen op tijd (stopwatch!) uitgevoerd moeten worden, kent het inzetten van een serie monsters zijn beperkingen. Reken van tevoren precies uit hoeveel monsters je kunt inzetten.

Een andere optie is om de test met twee personen uit te voeren.

Het testprincipe

Het testprincipe is heel eenvoudig (zie ook figuur 1). Bij de aanwezigheid van endotoxinen in een mon-

steroplossing worden allereerst de diverse Factoren geactiveerd wat uiteindelijk leidt tot de vorming van het 'clotting-enzym'. Dit enzym zorgt er in principe voor dat bij de gel-clot-test er een geleringsreactie optreedt. Dit 'clotting-enzym' is bij de kwantitatieve test in staat om het gelabelde chromogeensubstraat S-2423 te splitsen. Het para-nitroaniline (= pNA), het label dat aan het chromogeensubstraat gebonden is, komt dan vrij en produceert een gele kleur. De intensiteit van de kleur is een maat voor de aanwezige endotoxine concentratie. Bij de eindpuntmethode wordt de kleurontwikkeling na een bepaalde tijd gestopt m.b.v. azijnzuur. Indien een kinetische test wordt uitgevoerd dan wordt de kleurmeting voortgezet totdat deze niet meer verandert in de tijd.

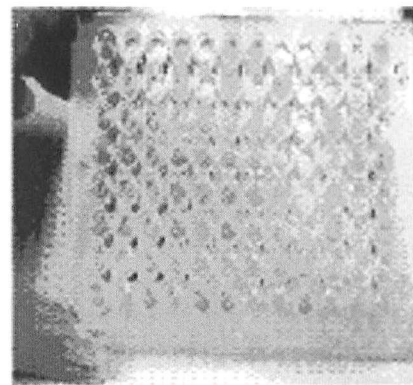
Het substraatgebonden pNA heeft een absorptie bij 310 nm, terwijl het vrije pNA een absorptie heeft bij 405 nm (zie figuur 2). Voor de kwantitatieve methode wordt dan ook de absorptie bij 405 nm gemeten. Voor de eindpuntmethode kan dit in een (micro) cuvet gebeuren, waarbij de absorptie in een spectrofotometer wordt afgelezen. Bij de kinetische methode moet je een micortiterplaat (zie figuur 4) gebruiken en deze moet beoordeeld worden in een microtiterplaatreader.

Bij het uitvoeren van de eindpuntmethode is het erg belangrijk om alles exact op tijd uit te voeren. Hiervoor moet je bij de uitvoering van de test een stopwatch gebruiken. Omdat je verschillende reagentia na elkaar moet toevoegen in een wisselend tijdschema moet je eerst op papier uitrekenen hoe je het pipetteerschema gaat opzetten. Als voorbeeld heb ik onderstaand het pipetteerschema van de Bio-Whittaker test weergegeven: Alle pipetteerstappen moeten met een 15 seconden interval gebeuren!

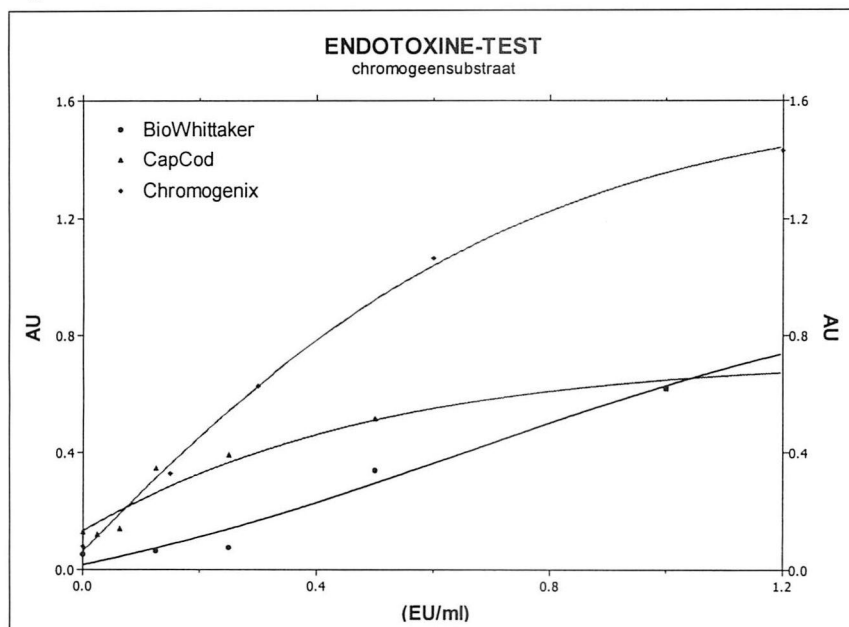
- Pipetteer 50 µl standaard- of monsteroplossing in de testbuisjes¹
- Incubeer 5 minuten bij 37°C in een waterbad²

- Pipetteer 50 µl LAL-reagens in de buisjes en vortex³
 - Incubeer 10 minuten bij 37°C in een waterbad
 - Pipetteer 100 µl substraatoplossing in de buisjes en vortex
 - Incubeer 6 minuten bij 37°C in een waterbad⁴
 - Pipetteer 100 µl azijnzuur 20% in de buisjes en vortex⁵
 - Meet de extinctie in microcuvetten bij 405 nm t.o.v. water als blanco
- ¹ – voor het toevoegen alle oplossingen 1 minuut vortexen
 - ² – gedurende deze tijd kun je maximaal 20 monsteroplossingen pipetteren
 - ³ – na het toevoegen van het LAL-reagens goed vortexen
 - ⁴ – i.v.m. het pipetteerschema komt 8 minuten incubatietijd beter uit (maakt voor de interpretatie van de monsteroplossingen niet uit, als het tijdsinterval maar constant is)
 - ⁵ – het azijnzuur stopt de kleurreactie, of dit nu na 6 of na 8 minuten incubatie gebeurt, is niet zo belangrijk (zie ook ⁴)

Voor de Chromogenix-test geldt een vergelijkbaar schema, zij het dat er andere volumina en tijdsintervallen worden gehanteerd. Voor de test van Associates of Cape Cod geldt een ander pipetteerschema, omdat zij een gecombineerd LAL-substraat gebruiken waardoor je dit in één keer bij de standaard- en monsteroplossingen pipetteert, en daarna 30 minuten incubeert. De totale testserie die je in één keer kunt verwerken kan daardoor bestaan uit maximaal 120 oplossingen. Voor



Figuur 3: Kalibratiecurven.



grote(re) series kan dit een enorm voordeel opleveren!

Als we de drie verschillende kalibratiecurven in één grafiek onderbrengen

dan ziet deze er uit als figuur 3.

Zo op het eerste gezicht zeg je dat je te maken hebt met drie totaal verschillende testen, als je X-as echter

Tabel I: Resultaten monsteroplossingen.

TEST	BIOWHITTAKER	ASSOCIATES of CAPE COD	CHROMOGENIX
PRODUKT	AU / EU/ml	AU / EU/ml	AU / EU/ml
Glucose 5%	0,041 / < 0	0,150 / < 0	0,071 / < 0
NaCl 0,9%	0,042 / < 0	0,190 / 0	0,068 / < 0
Water voor Injectie	0,036 / < 0	0,175 / < 0	0,078 / < 0
RO-water	0,040 / < 0	0,175 / < 0	0,075 / < 0
Hemodialysevloeist	0,040 / < 0	0,581 / 0,5	0,074 / < 0
Acila QC B-2000	0,582 / 0,98	0,691 / 1,12	1,385 / 0,90
Negatieve controle	0,037 / 0	0,132 / 0	0,080 / < 0

De aanduiding <0 wil zeggen dat het meetpunt onder het onderste kalibratiepunt (0-punt) van de kalibratielijn ligt.

AU = Absorbance Units; EU/ML = gemeten concentratie endotoxine.

Tabel II: Resultaten gespikte monsteroplossingen.

TEST	BIOWHITTAKER	ASSOCIATES of CAPE COD	CHROMOGENIX
PRODUKT	EU/ml / %	EU/ml / %	EU/ml / %
Glucose 5%	0,45 / 90	0,34 / 68	0,57 / 95
NaCl 0,9%	0,30 / 60	0,33 / 66	0,43 / 72
Water voor Injectie	0,49 / 98	0,49 / 98	0,53 / 88
RO-water	0,39 / 78	0,56 / 112	0,45 / 75
Hemodialysevloeist	0,39 / 78	0,49 / 98	0,90 / 150
Acila QC B-2000	1,15 / 77	0,48 / 30	Niet gemeten
Negatieve controle	Nvt	Nvt	Nvt
Spiking monsters	300 µl + 100 µl Endotoxine 2 Eu/ml	75 µl + 75 µl Endotoxine 1 Eu/ml	1900 µl + 100 µl Endotoxine 12 Eu/ml
Theoretische conc.	0,5 EU/ml	0,5 EU/ml	0,6 EU/ml

Recovery van Acila QC B-2000: waarde tabel I + theoretische conc. = spiking.
EU/ml = gemeten concentratie endotoxine; % = percentage recovery.

een log-2-conversie zou geven (dat is in dit tekenprogramma echter niet mogelijk) dan komen de curven al een stuk meer naar elkaar toe (c.q. met elkaar overeen).

Maar hoe de curven ook lopen is niet direct van belang, het is meer van belang hoe onze monsteroplossingen geïnterpreteerd worden op de drie verschillende curven.

In tabel 1 staat aangegeven wat we per monsteroplossing hebben gemeten en wat daar de interpretatie van is. In tabel 2 staan de gegevens vermeld van de gespikte monsteroplossingen en de daarbij behorende 'recovery's', onder in de tabel staat aangegeven met welke concentratie de monsteroplossingen zijn gespiked.

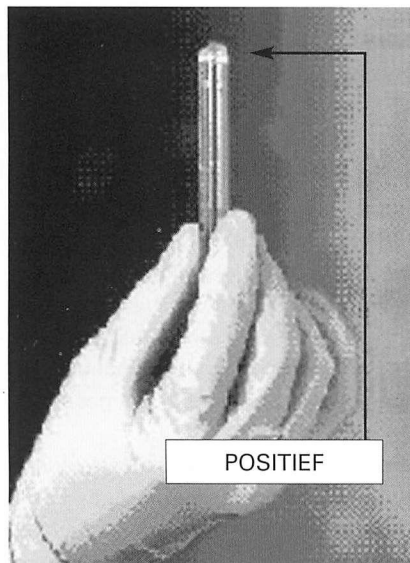
Naast deze chromogeensubstraat-test resultaten hebben we het Acila QC B-2000 monster ook geanalyseerd met een tweetal gel-clot-testen, nl. de gel-clot-test van BioWhittaker en de gel-clot-test van de Associates of Cape Cod. In tabel III staan de resultaten vermeld.

De gel-clot-testen zijn conform de Methode-C van de Farmacopee uitgevoerd, dit is de semi-kwantitatieve testmethodiek. Het meegeleverde CSE is conform de werkmethode van de leveranciers verdund in de aangegeven concentraties (van 1 tot 0 EU/ml). Beide testen hebben een gevoeligheid (= λ) van 0,125 EU/ml. Dat wil zeggen dat de laagst detecteerbare concentratie endotoxine 0,125 EU/ml moet zijn. Beide testen voldoen aan deze eis.

Bij het Acila QC B-2000 monster zien we dat een verdunning van 8-maal een positieve reactie geeft bij beide testen, d.w.z. een gelvorming. Bij een verdunning van 16-maal zien we een negatieve reactie, d.w.z. dat er geen gelvorming is opgetreden. De gelvorming wordt beoordeeld door de buizen in één vloeiende beweging over 180° te draaien en dan te beoordelen of de gel blijft zitten in de punt van de buis (zie figuur 5), alleen dan is het een positief resultaat! Indien er wel een gel aanwezig is, maar deze gel loopt weg bij

draaiing over 180°, dan is dit een negatief resultaat. Een echt negatief resultaat is het wanneer bij draaiing over 180° de meetoplossing spontaan wegvloeit.

Figuur 5: Positieve gel-clot-test.



Voor de uitvoering van de gel-clot-testen hebben we gebruik gemaakt van een waterbad met roermotor, welke was geplaatst op een tafel waarop geen apparatuur stond die trilling kon veroorzaken. Daarnaast is in het water een klein plastic bakje geplaatst waarin het verwarmde water (37° C) was overgebracht en waarin de testbuisjes trillingvrij konden staan (de roer karakteristiek van de roermotor was van een dusdanige aard dat deze de gelvorming mogelijk kon verstoren). Het water

in het plastic bakje werd door het water van het waterbad (eveneens 37° C) exact op temperatuur gehouden.

Op deze wijze bleek het uitstekend mogelijk om de gel-clot-testen betrouwbaar en snel uit te voeren.

In de tabel III staan de twee kalibratielijnen in water weergegeven (linkerkolommen) en staat weergegeven wat de resultaten zijn van de ingezette verdunningsreeks van het betreffende Acila QC-B-2000 monster. Voor de volledigheid is iedere verdunning van dit monster ook nog gespiked met 0,5 EU/ml endotoxine, we zien dan dat alle monsters positief terugkomen in de serie.

Interpretatie van de resultaten

Kwantitatieve testen

Zoals al opgemerkt is kunnen we op het eerste gezicht niet direct iets zeggen over de kalibratiecurven van de kwantitatieve testen. Gezien het feit dat wij de test tweemaal hebben uitgevoerd, met vergelijkbare resultaten, wil nog niet zeggen dat deze kalibratiecurven de waarheid weergeven. Daarvoor is uitgebreider onderzoek noodzakelijk.

Wat we aan de hand van de resultaten wel kunnen zeggen is dat, ondanks de verschillen in kalibratiecurven, de kwantitatieve testen allen hetzelfde resultaat te zien geven (zie tabel I). In het bijzonder zeggen de resultaten van het Water voor

Injectie-monster en van het Acila QC B-2000 monster iets over de nauwkeurigheid van de testen. De spiking van de monsters (zie tabel II) zegt iets over de recovery van de toegevoegde endotoxine. De resultaten hiervan zijn alleszins acceptabel, voor deze testen geldt een nauwkeurigheid van $\pm 25\%$. Opvallend in deze tabel is echter wel dat een fysiologische zoutoplossing een relatief lage recovery geeft. De oorzaak hiervan is voor mij niet geheel duidelijk, maar zal waarschijnlijk gezocht moeten worden in een pH- of een ion-effect. Voor de volledigheid zij opgemerkt dat het Acila QC B-2000 monster een endotoxine concentratie van 1 EU/ml had.

Gel-clot-testen

De twee geteste gel-clot-testen presteren naar verwachting. Tussen de twee testen is geen noemenswaardig verschil waarneembaar. Het Acila QC B-2000 monster geeft een positief resultaat bij een verdunning van 8-maal, dat wil zeggen dat er een endotoxine concentratie aanwezig is van $8 \times 0,125 \text{ EU/ml} = 1,0 \text{ EU/ml}$.

In ogenschouw genomen dat dit een semi-kwantitatieve methode is en het resultaat mag variëren tussen de 50 en 200% (dit zijn de onder en bovenliggende verdunningen), presteren beide testen goed en betrouwbaar.

Om een objectieve vergelijking tussen de verschillende testmethodieken mogelijk te maken heb ik als laatste nog een tabel bijgevoegd waarin de verschillende kenmerken van de methodieken nog eens op een rijtje gezet worden, dit is tabel IV.

Conclusie

Als we de resultaten van alle testen op een rijtje zetten dan zien we dat de kwantitatieve testen en de semi-kwantitatieve testen vergelijkbare resultaten opleveren. Naar aanleiding van deze resultaten en na bestudering van de gegevens in tabel IV, hebben wij besloten om geen andere endo-

Tabel III: Resultaten gel-clot-testen.

Endotoxine Standaard EU/ml	BioWhittaker Gel-clot-test kalibratielijijn	Associates of Cape Cod Gel-clot-test kalibratielijijn	Acila QC B-2000 Verdunnings- Factor	BioWhittaker Gel-clot-test	Associates of Cape Cod Gel-clot-test
0,000	Neg	Neg	2	Pos	Pos
0,063	Neg/Pos	Neg	4	Pos	Pos
0,125	Pos	Pos	8	Pos	Pos
0,250	Pos	Pos	16	Neg	Neg
0,500	Pos	Pos	32	Neg	Neg
1,000	Pos	Pos	64	Neg	Neg
Gevoeligheid	$\lambda = 0,125$	$\lambda = 0,125$	Gespiked	+ 0,5 EU/ml	+ 0,5 EU/ml
			2	Pos	Pos
			4	Pos	Pos
			8	Pos	Pos
			16	Pos	Pos
			32	Pos	Pos
			64	Pos	Pos

Tabel IV: Vergelijking van de verschillende testmethodieken.

Methodiek	Gel-Clot	Turbidimetrisch		Chromogeensubstraat	
Eigenschap		Eindpunt	Kinetisch	Eindpunt	Kinetisch
Kosten	Laag	Relatief goedkoop	Dure apparatuur	Relatief goedkoop	Duurstelste apparatuur
Gevoeligheid	0,03 EU/ml	0,001 EU/ml gevoeligste methodiek	0,001 EU/ml gevoeligste methodiek	0,005 EU/ml	0,005 EU/ml
Resolutie	$\pm 2n$ verdunning (50 – 200%)	$\pm 25\%$	$\pm 25\%$	$\pm 25\%$	$\pm 25\%$
Maximaal testbereik	n.v.t.	1 log	0,001 – 100 EU/ml	1 log	0,005 – 50 EU/ml
Interferentie	Minst gevoelig	Meer gevoelig voor interferentie dan gel-clot, door grotere verdunning, vaak wel op te lossen			
Tijdsinterval	1 uur, handmatig	Zeër kritisch	Automatisch	Kritisch, reactie wordt gestopt	Automatisch
Testbuizen	Soda-lime glas	Borosilicaat glas of microtiter-plaat	Borosilicaat glas of microtiter-plaat	Microtiter-plaat of glazen buizen	Microtiter-plaat
Diversen	Standaard methode	PC gestuurd	PC gestuurd	PC gestuurd	PC gestuurd

toxinetest bij ons op het laboratorium te introduceren. De resultaten van onze gel-clot-test komen overeen met de veel duurdere kwantitatieve testen. Ook voor de invoering van een kinetische test zien wij geen noodzaak. Het aantal monsters dat wij analyseren rechtvaardigt geen investering in dure apparatuur (microtiterplaatapparatuur en computerprogramma's). Wij houden het vooralsnog bij de ons vertrouwde

gel-clot-test van BioWhittaker.

Wel hebben we, naar aanleiding van deze testen en de wijzigingen in de farmacopee, een aantal verbeteringen in de uitvoering aangebracht, zodat we nu meer in lijn met de farmacopee de test uitvoeren.

Hoe en wat we daaraan hebben gedaan wil ik graag in een volgend artikel over de endotoxinetest vertellen.

De afbeeldingen in dit artikel zijn afkomstig van de websites van de drie verschillende fabrikanten:

www.cambrex.com
www.acciusa.com
www.nodia.com

Andere interessante sites zijn o.a.:

www.kumc.edu
www.mbl.edu
www.pyroquant.de
www.horseshoecrab.org