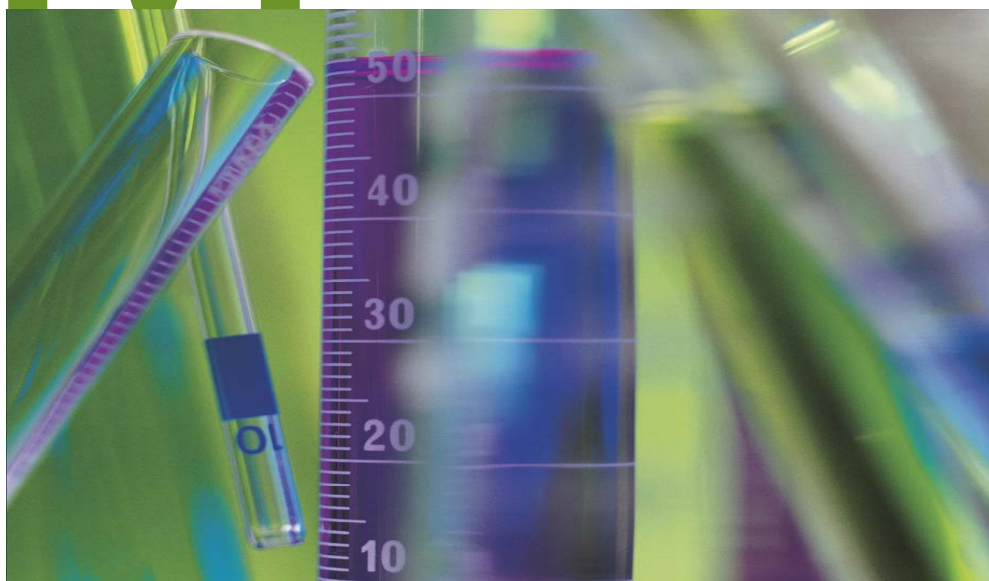


M

Méthodes de laboratoire

Analyse des endotoxines

MÉTHODE ANALYTIQUE 332



Applicabilité

Cette méthode est utilisée pour analyser les endotoxines.

Norme(s)¹

Aucune norme.

Système d'échantillonnage

Filtres de fibre de verre avec cassettes trois sections ou Porte filtre Button.

Volume et débit d'échantillonnage recommandés

Débit 2L/min (durée : 4 heures) à 10L/min (durée : 1 heure)

Volume allant de 480 à 600 Litres (selon le système d'échantillonnage).

Analyse

Spectromètre, Méthode du LAL.

Valeur minimale rapportée (VMR)

0.4EU/m³ pour un prélèvement de 4 heures à 2L/min

Domaine d'application

Dépendant des dilutions effectuées.

Fidélité analytique

Répétabilité : 6,44 %

Réplicabilité : 1,96 %.

Incertitude analytique (CV_A)

15 %.



Solidement implanté au Québec depuis 1980, l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) est un organisme de recherche scientifique reconnu internationalement pour la qualité de ses travaux.

NOS RECHERCHES

Mission *travaillent pour vous !*

Contribuer, par la recherche, à la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles ainsi qu'à la réadaptation des travailleurs qui en sont victimes.

Offrir les services de laboratoires et l'expertise nécessaires à l'action du réseau public de prévention en santé et en sécurité du travail.

Assurer la diffusion des connaissances, jouer un rôle de référence scientifique et d'expert.

Doté d'un conseil d'administration paritaire où siègent en nombre égal des représentants des employeurs et des travailleurs, l'IRSST est financé par la Commission de la santé et de la sécurité du travail.

Pour en savoir plus

Visitez notre site Web ! Vous y trouverez une information complète et à jour.
De plus, toutes les publications éditées par l'IRSST peuvent être téléchargées gratuitement.
www.irsst.qc.ca

Pour connaître l'actualité de la recherche menée ou financée par l'IRSST, abonnez-vous gratuitement au magazine Prévention au travail, publié conjointement par l'Institut et la CSST.
Abonnement : 1-877-221-7046

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales
2009
ISBN : 978-2-89631-279-5 (PDF)
ISSN : 0820-8395

IRSST - Direction des communications
505, boul. De Maisonneuve Ouest
Montréal (Québec)
H3A 3C2
Téléphone : 514 288-1551
Télécopieur : 514 288-7636
publications@irsst.qc.ca
www.irsst.qc.ca
© Institut de recherche Robert-Sauvé
en santé et en sécurité du travail,
2009

Méthodes de laboratoire

Analyse des endotoxines

MÉTHODE ANALYTIQUE 332

Avis de non-responsabilité

L'IRSST ne donne aucune garantie relative à l'exactitude, la fiabilité ou le caractère exhaustif de l'information contenue dans ce document.

En aucun cas l'IRSST ne saurait être tenu responsable pour tout dommage corporel, moral ou matériel résultant de l'utilisation de cette information.

Notez que les contenus des documents sont protégés par les législations canadiennes applicables en matière de propriété intellectuelle.

Les méthodes d'analyses ou d'étalonnage sont celles mises au point ou retenues par l'IRSST pour l'exécution de ses différents mandats. Elles peuvent requérir l'utilisation de matériels, d'opérations ou d'équipements dangereux. Ces méthodes n'ont pas pour but de mentionner tous les problèmes de sécurité associés avec leur utilisation. C'est la responsabilité de l'utilisateur d'établir les pratiques de santé et de sécurité appropriées. L'utilisation des données incluses dans ces méthodes se fera aux seuls risques de l'utilisateur : l'IRSST se dégage de toute responsabilité relative aux erreurs ou aux dommages qui découleraient de telle utilisation et de telle application. Les hyperliens qui apparaissent dans ce document ont été validés au moment de la publication

Responsable technique de la méthode

*Geneviève Marchand, Ph.D., microbiologiste,
Services et expertises de laboratoire, IRSST*

Approbation

*Geneviève Marchand, Ph.D., microbiologiste,
Marie-Claude Barrette, M.Sc., chimiste,
responsable du programme d'assurance qualité
et Jacques Lesage, M.Sc., chimiste, directeur,
Services et expertises de laboratoire, IRSST*

Autorisation pour publication

*Marie Larue, M.Sc., Présidente-directrice générale
Présidence-direction générale, IRSST*



Cette publication est disponible
en version PDF
sur le site Web de l'IRSST.
www.irsst.qc.ca

Ce document technique a été financé par l'IRSST. Les conclusions et recommandations sont celles des auteurs.

CONFORMÉMENT AUX POLITIQUES DE L'IRSS

Les résultats des travaux de recherche publiés dans ce document
ont fait l'objet d'une évaluation par des pairs.

TABLE DES MATIÈRES

Préambule	1
1. Principe de la méthode.....	2
2. Interférences	2
3. Matériel	2
4. Réactifs.....	3
5. Échantillonnage	3
5.1 Limite relative d'exposition	3
6. Protocole analytique.....	4
6.1 Traitement de la verrerie et des filtres en fibre de verre.	4
6.2 Matériel d'échantillonnage	4
6.3 Extraction des endotoxines	4
6.4 Programmation du spectromètre	5
6.5 Chargement de la plaque	5
6.6 Analyse des échantillons	6
6.7 Acceptabilité des résultats	6
7. Paramètres d'application	6
7.1 Limite de détection et limite de quantification	6
7.2 Fidélité	7
7.3 Exactitude	7
7.4 Stabilité des échantillons	7
7.5 Désorption / récupération :	8
8. Contrôle de qualité	8
9. Calculs	9
10. SST.....	9
11. Références.....	9
12. Bibliographie	9

Préambule

La [Loi sur la santé et la sécurité du travail](#) au Québec a comme objet l'élimination à la source des dangers pour la santé, la sécurité et l'intégrité physique des travailleurs. Des valeurs d'exposition admissibles (VEA) aux substances chimiques ont été fixées à l'annexe 1 du [Règlement sur la santé et la sécurité de travail](#) (RSST). L'article 44 de ce règlement intitulé « Méthodes » spécifie que :

« ... Ces gaz, ces fumées, ces vapeurs, ces poussières et ces brouillards présents dans le milieu de travail doivent être prélevés et analysés de manière à obtenir une précision équivalente à celle obtenue en appliquant les méthodes décrites dans le Guide d'échantillonnage des contaminants de l'air en milieu de travail publié par l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail ... »

Pour atteindre ces objectifs, des méthodes d'analyse visant à quantifier le degré d'exposition des travailleurs sont développées et rédigées pour implanter les moyens de contrôle adéquats. Afin d'assister les intervenants en milieu de travail, l'IRSST publie, révisé périodiquement et diffuse le [Guide d'échantillonnage des contaminants de l'air en milieu de travail](#) et la direction Services et expertises de laboratoire publie des méthodes d'analyses des contaminants.

Ces méthodes doivent être utilisées de concert avec les références réglementaires et normatives suivantes :

- ✓ *Loi sur la santé et la sécurité du travail*. L.R.Q., chapitre S-2.1. Éditeur officiel du Québec, (1^{er} août 2007).
http://www2.publicationsduquebec.gouv.qc.ca/dynamicSearch/telecharge.php?type=2&file=/S_2_1/S2_1.html
- ✓ *Règlement sur la santé et la sécurité du travail*. S-2.1, r.19.01, Décret 885-2001. Éditeur officiel du Québec (25 juillet 2007).
http://www2.publicationsduquebec.gouv.qc.ca/dynamicSearch/telecharge.php?type=2&file=%2F%2FS_2_1%2FS2_1R19_01.htm
- ✓ *Guide d'échantillonnage des contaminants de l'air en milieu de travail*. Direction des opérations, IRSST, T-06 Guide technique, Montréal, Québec, (mars 2005). <http://www.irsst.qc.ca/files/documents/PubIRSST/T-06.pdf>
- ✓ NIOSH, National Institute for Occupational Safety and Health .
- ✓ ISO Guide 30, Termes et définitions utilisés en rapport avec les matériaux de référence, 2^e édition, 1992.
- ✓ ISO, Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie, 2^e édition, 1993.
- ✓ American Industrial Hygiene Association (AIHA), organisme qui accrédite le laboratoire de l'IRSST dans le domaine de l'analyse des contaminants chimiques en milieu de travail et pour l'analyse environnementale microbiologique.

Par ailleurs, toute la terminologie utilisée dans cette méthode est décrite dans l'instruction de travail « I-G-014 » du système de gestion documentaire associée au système qualité de l'IRSST.

1. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Aspirer un volume d'air connu à travers un filtre de fibre de verre de 37 mm pour recueillir les endotoxines. Extraire le filtre dans une solution aqueuse qui sera par la suite traitée au bain à ultrasons et par agitation.

La méthode d'analyse utilisée permet de quantifier le niveau toxigénique d'endotoxines contenues dans la solution d'extraction.

Le dosage est effectué par une analyse chromogénique de type cinétique à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 405 nm.

2. INTERFÉRENCES

La sensibilité de cette méthode varie selon :

- ✓ La rencontre de produits qui peuvent interagir avec la réaction enzymatique.
- ✓ La rencontre de produits qui modifient la dispersion des endotoxines.
- ✓ La présence de protéases serine qui peuvent causer de faux positifs.
- ✓ La coloration ou la turbidité d'un produit qui peut interférer avec l'analyse LAL

Différents produits peuvent interférer avec l'analyse du LAL. La présence d'interférence doit être vérifiée pour chaque nouveau produit utilisé et pour chaque groupe d'échantillons analysés.

Il est essentiel de démontrer qu'il n'y a pas d'interférence avec chaque groupe d'échantillons. La majorité des interférences sont dépendantes de la concentration et peuvent être contrées par une dilution avec de l'eau LRW (« LAL reagent water »).

3. MATÉRIEL

3.1 Échantillonnage

- ✓ Cassette de plastique en trois sections ou porte-filtre Button
- ✓ Support pour filtre de verre
- ✓ Filtre de fibre de verre 37mm (Pall type A/E # 61652)
- ✓ Bande de cellulose (millipore # AP4003705)
- ✓ Pompe à haute volume

3.2 Matériel de laboratoire

- ✓ Lecteur de spectrophotométrie pour microplaque 96 puits
- ✓ Logiciel « Softmax Pro »
- ✓ Vortex multi-tubes
- ✓ Bain à ultrasons
- ✓ Micropipettes de précision
- ✓ Pipette à répétition ou multi-pipette
- ✓ Embouts certifiés sans endotoxines

- ✓ Tubes de verre certifié sans endotoxines
- ✓ Microplaques 96 puits certifiées sans endotoxines
- ✓ Tubes 2 mL certifiés sans endotoxines
- ✓ Tube à centrifuger 50 mL en polypropylène
- ✓ Incubateur ($37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$)
- ✓ Four Pasteur
- ✓ Jarre à pommade
- ✓ Centrifugeuse

4. RÉACTIFS

- ✓ Eau stérile pour irrigation, USP (Baxter)
- ✓ Tween 20
- ✓ LAL reagent water
- ✓ CSE i.e. « Control Standard Endotoxines » (10ng/vial 50 EU/mL ou 2 EU/mL)
- ✓ Pyrochrome LAL (A.C.C.)
- ✓ Tampon de contrôle de l'interférence

5. ÉCHANTILLONNAGE

Le prélèvement se fait à l'aide de filtres en fibre de verre qui peuvent être montrés soit dans des cassettes en trois sections ou soit dans un porte-filtre Button. Le débit de prélèvement est de 2L/min lorsque les cassettes en trois sections sont utilisées et de 4L/min pour les prélèvements personnels et de 10L/min pour les prélèvements environnementaux lorsque le porte-filtre Button est utilisé. La durée du prélèvement varie de 1 à 4 heures.

5.1 Limite relative d'exposition

5.1.1 Pour l'analyse des endotoxines la valeur limite d'exposition relative est utilisée. Cette limite est basée sur une comparaison avec un niveau de base qui est souvent l'air extérieur. Lorsque des problèmes respiratoires sont reconnus une limite d'exposition de 10X le niveau de base est recommandée alors que lorsqu'aucun problème n'est recensé une limite de 30X le niveau de base est considéré acceptable.

5.1.2 Toujours faire un témoin, c'est à dire un contrôle négatif.

Pour plus de détails sur la préparation du matériel d'échantillonnage, l'étalonnage et la stratégie utilisée, se référer au Guide d'échantillonnage de l'IRSST¹.

6. PROTOCOLE ANALYTIQUE

6.1 Traitement de la verrerie et des filtres en fibre de verre.

La verrerie non certifiée sans endotoxine qui est utilisée pour l'analyse des endotoxines ainsi que les filtres de fibre de verre et les supports de filtre doivent être traités au four à 180°C pour au moins 4 heures ou à 210°C pour 60 minutes.

6.2 Matériel d'échantillonnage

Monter les cassettes dans un endroit stérile de façon à réduire les risques de contaminations. Minimiser les contacts avec le filtre et l'intérieur de la cassette.

6.2.1 Montage des filtres dans une cassette en plastique

1. Commencer par mettre le support de fibre de verre et ensuite le filtre de fibre de verre.
2. Presser la cassette et s'assurer de son étanchéité.
3. Mettre une bande de cellulose pour sceller la cassette.
4. Identifier celle-ci avec une étiquette.

6.2.2 Montage des filtres dans un porte-filtre Button

1. Commencer par mettre le support de fibre de verre et ensuite le filtre de fibre de verre.
2. Identifier celui-ci avec une étiquette.

6.3 Extraction des endotoxines

Avant l'utilisation de tout matériel, s'assurer qu'un contrôle qualité a été fait et que le niveau d'endotoxine est inférieur à 0,05 EU/mL.

- 6.3.1 Transférer le filtre de fibre de verre dans le tube à centrifuger en polypropylène.
- 6.3.2 Ajouter 20 mL d'eau d'irrigation additionné de 0,05% de Tween 20.
- 6.3.3 Placer le tube au bain à ultrasons pour 60 minutes en s'assurant que la température du bain ne dépasse pas les 30°C.
- 6.3.4 Placer le tube dans le Vortex multi-tubes pour 30 minutes et centrifuger 10 minutes à 2000 RPM
- 6.3.5 Faire la même manipulation avec un tube sans filtre. Il s'agit d'un contrôle de manipulation. (« check »)
- 6.3.6 Procéder à l'analyse (section 6.4 à 6.7).

Les échantillons peuvent être conservés dans des tubes certifiés sans endotoxines et doivent être analysés dans les plus brefs délais (i.e. dans un délai de 24 à 48 heures après l'échantillonnage).

6.4 Programmation du spectromètre

Le logiciel « SoftMax » Pro permet de calculer le pourcentage de récupération des enrichissements et indique si l'échantillon est valide. La création d'un gabarit peut être créée et demeurer permanent. Il suffit d'y inclure les données suivantes: courbe d'étalonnage, solution d'échantillon, solution de contrôle de manipulation, solution enrichissement d'interférence, contrôle négatif, contrôle positif. Chacune des solutions doit être analysée en duplicata dans deux puits adjacents.

Le lecteur utilise les résultats de la courbe d'étalonnage pour calculer les concentrations et tient compte des dilutions effectuées.

Il permet aussi de conserver les conditions de lecture de l'appareil : (intervalle de lecture (15 sec.), durée des lectures (1h30), longueur d'onde (405nm), « Onset time » à 0,2, agitation (oui) une fois avant la première lecture).

6.4.1 Ajuster la température d'incubation à 37°C.

6.4.2 Faire le gabarit de la plaque à extraire selon le nombre d'échantillons. Spécifier les dilutions effectuées et les enrichissements d'interférence (ajouts dosés).

6.4.3 Vérifier si les conditions de lecture sont adéquates.

6.5 Chargement de la plaque

6.5.1 Bien agiter à l'aide du vortex avant de prendre une aliquote des suspensions d'échantillon (les endotoxines se lient facilement aux parois).

6.5.2 Préparer la solution du CSE (« Control standard endotoxine ») selon les spécifications du fabricant. La concentration du CSE est de 50 EU/mL.

6.5.3 Faire une courbe d'étalonnage de 0,01 à 1 EU/mL, en effectuant des dilutions 1:10. à partir de la solution de CSE de 50 EU/mL. Utiliser des tubes certifiés sans endotoxines.

6.5.4 Selon le gabarit enregistré préalablement, mettre 50 µL ou 100 µL (selon le fabricant) de chacune des solutions: **standards, suspension d'échantillon, contrôle négatif** (eau LRW) **ainsi que le contrôle positif** qui est un réplicat du point central de la courbe d'étalonnage.

6.5.5 Test d'interférence

6.5.5.1 Pour chacun des réplicats des suspensions d'échantillon, faire un ajout dosé.

6.5.5.2 L'ajout se fait en ajoutant 10µL du standard 1EU/mL dans le puits contenant déjà la suspension de l'échantillon. ATTENTION. Il faut que la concentration de l'ajout dosé corresponde à la concentration au centre de la courbe d'étalonnage.

- 6.5.6 Incuber la plaque à 37°C pour 10 minutes avant de mettre le LAL.
- 6.5.7 S'assurer que le spectrophotomètre a bien atteint sa température d'incubation à 37°C.
- 6.5.8 Ajouter 50 µL ou 100 µL du LAL, selon les recommandations du manufacturier, en commençant par les puits dont les **concentrations sont les plus faibles**. Utiliser la pipette à répétition ou une multi-pipette. Cette étape doit être exécutée très rapidement.
- 6.5.9 Mettre la plaque dans le lecteur, enlever le couvercle avant de faire la lecture.

6.6 Analyse des échantillons

Les données de lecture sont enregistrées et interprétées par le logiciel « Softmax Pro » tout au long de la période d'incubation.

6.7 Acceptabilité des résultats

Afin d'assurer la validation des résultats, différents paramètres doivent être vérifiés.

- 6.7.1 Le coefficient de corrélation (r) de la courbe d'étalonnage doit être supérieur ou égal à 0,995 et le coefficient de variation (c.v.) des standards doit être inférieur à 4%.
- 6.7.2 Les blancs (contrôle négatif) de plaques doivent avoir un « Onset Time » significativement plus long que celui du standard le moins concentré de la courbe.
- 6.7.3 La concentration obtenue pour le contrôle positif dans l'eau LRW doit se situer entre 50% et 150% ($\pm 50\%$) de sa valeur attendue.
- 6.7.4 La concentration obtenue pour les ajouts dosés des échantillons, des témoins et des « check » doivent se situer entre 50% et 150% ($\pm 50\%$) de leur valeur attendue.
- 6.7.5 La concentration en endotoxines du « check » (contrôle labo) doit être inférieure au point le moins concentré (γ) de la courbe d'étalonnage.

7. PARAMÈTRES D'APPLICATION

Les domaines d'application sont spécifiques aux produits de la compagnie Charles River. Les données peuvent varier selon les fournisseurs de produits.

7.1 Limite de détection et limite de quantification

- 7.1.1 **Linéarité** : La linéarité de la courbe d'étalonnage a été démontrée pour des concentrations variant entre 0,0015 à 50 EU/mL. Ceci correspond à des concentrations de 0,063 à 2000 EU/m³ d'air respectivement, pour un volume d'air prélevé de 480 L et un volume final de solution d'extraction de 20 mL sans aucune dilution de la solution d'extraction.
- 7.1.2 **Limite de détection** : La limite de détection de la méthode d'analyse des endotoxines est de 0,0023 EU/mL. Elle se définit comme étant la concentration équivalente à trois fois

l'écart-type calculé à partir de 20 mesures effectuées sur une solution d'eau LRW.

- 7.1.3 **Limite inférieure de quantification** : La limite inférieure de la méthode d'analyse des endotoxines est de 0,0078 EU/mL. Elle se définit comme étant la concentration équivalant à dix fois l'écart-type calculé à partir de 20 mesures effectuées sur une solution d'eau LRW.

7.2 Fidélité

7.2.1 Réplicabilité

La réplicabilité a été déterminée pour quatre concentrations d'endotoxines. Pour chaque concentration, 12 fractions d'un même échantillon ont été soumises à la méthode d'analyse. Elle a été calculée à partir de deux aliquotes analysés la même journée, par le même analyste et sur le même appareil. Elle correspond à 1,96%.

7.2.2 Répétabilité

La répétabilité a été déterminée pour quatre concentrations d'endotoxines. Pour chaque concentration, deux fractions d'un même échantillon ont été soumises à la méthode d'analyse. Elle a été calculée à partir de deux aliquotes analysés trois jours différents, avec deux courbes d'étalonnage différentes, par le même appareil et par trois analystes différents. Elle correspond à 6,44%.

7.3 Exactitude

L'exactitude de la méthode analytique est vérifiée à chaque séance d'analyse par l'utilisation d'un contrôle positif préparé par nos laboratoires. La concentration de ce contrôle positif se trouve dans la partie centrale de la courbe où se trouve les concentrations de la majorité des échantillons. Le pourcentage d'écart obtenu à partir des ajouts dosés réalisés à l'aide de 32 plaques au cours des 3 dernières années a été calculé à 43%.

7.4 Stabilité des échantillons

- 7.4.1 Les échantillons non extraits, conservés à la température de la pièce dans un endroit sec, ne semblent pas démontrer de variation de leur contenu en endotoxines pour environ deux semaines. Il est toutefois préférable de les analyser le plus rapidement possible
- 7.4.2 Les échantillons extraits, conservés au réfrigérateur, ne semblent pas démontrer de variation de leur contenu en endotoxines pour environ 48 heures.

7.5 Désorption / récupération :

Un test de désorption/récupération a été réalisé pour quatre concentrations différentes d'endotoxines. Pour chaque concentration, douze aliquotes ont été ajoutées sur des filtres de fibre de verre. Après séchage des aliquotes, les filtres ont été soumis à la méthode d'analyse. Toutes les analyses ont été réalisées lors d'une même journée, par le même analyste et sur le même appareil. Les résultats obtenus de ces essais sont présentés au tableau 1.

Tableau 1 : Test de désorption / récupération (n=12)

Concentration (EU/mL)	0,1	0,25	0,625	1,25
Coefficient de dés / rec (%)	105,18	94,19	96,51	112,22

Moyenne de récupération : 102%

8. CONTRÔLE DE QUALITÉ

Pour chaque série d'analyse, un contrôle d'extraction (check) est réalisé. Ce contrôle est un échantillon sans filtre qui suit exactement le même procédé d'analyse que le reste des échantillons. Le résultat d'analyse pour cette suspension d'échantillon doit être inférieur à 0,05EU/ml.

Pour chaque plaque d'analyse réalisée un contrôle négatif (eau LRW) et un contrôle positif (le point central de la courbe d'étalonnage soit 0,1EU/mL) sont réalisés. Le contrôle négatif doit avoir une concentration d'endotoxine inférieure à 0,05EU/mL. Le contrôle positif doit avoir une concentration à plus ou moins 50% de la concentration ciblée.

Pour chaque suspension d'échantillon, un ajout dosé est réalisé (spike). Cet ajout doit être récupéré à plus ou moins 50% de la valeur ciblée. Cette valeur est habituellement la concentration équivalente au milieu de la courbe soit 0,1EU/ml.

Pour tous les duplicatas d'échantillons réalisés, le coefficient de variation entre les deux résultats obtenus ne doit pas être supérieur à 10%. Pour la courbe d'étalonnage, cette variation entre les duplicatas ne doit pas excéder 4 %.

9. CALCULS

Pour obtenir les résultats en EU/m³, la concentration obtenue est multipliée par la dilution et le volume de solution d'extraction utilisé et est ensuite divisé par le volume d'air (m³) prélevé.

$$EU/m^3 = \frac{\text{concentration} \times \text{dilution} \times \text{volume d'extraction}}{\text{volume d'air prélevé en L}} \times \frac{1000 L}{m^3}$$

10. SST

Non applicable

11. RÉFÉRENCES

- 1 *Guide d'échantillonnage des contaminants de l'air en milieu de travail*. Direction des opérations, IRSST, T-06 Guide technique, Montréal, Québec, (Février 2005).
<http://www.irsst.qc.ca/files/documents/PubIRSST/T-06.pdf>
- 2 *Limulus Amebocyte Lysate, endosafe® endochrome-K™ « multi-test vial for endotoxin detection*, livret d'utilisation, Charles River Endosafe, Charleston, South Carolina, USA.

12. BIBLIOGRAPHIE

Munson, T.E., *Guideline for validation of the LAL test as an end-product endotoxin test for human and biological drug products*, in *Bacterial Endotoxins : Structure, Biomedical Significance, and Detection with the Limulus Amebocyte Lysate*, pages :211-220, 1985.