

БУФЕРНЫЙ РАСТВОР ТРИС HCl 0,25M
(Трис (гидроксиметил) аминметан)

НАЗНАЧЕНИЕ

Буферный раствор основной Трис 0,25M используется для доведения значения pH при определении бактериальных эндотоксинов с помощью ЛАЛ-теста. Назначение раствора - доведение значения pH испытуемого раствора, имеющего кислую реакцию до начала испытания (1). Согласно требованиям фармакопейной статьи «Бактериальные эндотоксины», растворы для доведения pH могут применяться в качестве средства преодоления ингибирования реакции (2).

ПРИНЦИПЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

ЛАЛ-тест является высокоспецифичным и высокочувствительным способом определения содержания бактериальных эндотоксинов. Реакция ЛАЛ-реактива представляет собой ферментативный процесс, для которого требуется нейтральное значение pH и соответствующее сочетание концентрации одно- и двухвалентных катионов (1,2). Значение pH испытуемого раствора может быть причиной ингибирования реакции в том случае, если оно не соответствует оптимальному значению, что может выражаться в получении отрицательных результатов в положительном контроле испытуемого препарата. С помощью 0,25 M основного раствора Трис буфера можно добиться нейтрализации испытуемых растворов, имеющих кислую реакцию.

Наиболее распространенная причина ингибирования – значение pH реакционной смеси, выходящее за рамки оптимального (1). Идеальным способом преодоления ингибирования, связанного с неоптимальным значением pH, является разведение испытуемого препарата. ЛАЛ-реактивы производства Charles River Endosafe содержат буфер, поэтому после разведения испытуемого препарата водой может не понадобится доводить значение pH такого раствора, даже если исходный раствор имеет кислую реакцию. Но если уровень мешающих факторов в испытуемом препарате высок, а значение МДР низкое, то использование растворов для доведения pH в сочетании с разведением испытуемого препарата является единственным способом проведения анализа в рамках допустимого разведения. В разделе «Правила использования» приводится описание правил использования 0,25 M основного раствора Трис буфера.

СОСТАВ

Каждый флакон содержит 5 мл буферного раствора, содержащего 0.25 моль трис-(гидроксиметил)-аминметана со значением pH примерно 9. Буферный раствор подвергается финишной стерилизации и не содержит эндотоксинов.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Только для использования *in vitro*. Не использовать для введения человеку или животным.
2. Использовать реактив только для доведения значения pH испытуемых растворов или субстанций при подготовке к проведению ЛАЛ-теста с помощью ЛАЛ-реактива Endosafe®. Этот буферный раствор не может быть использован для разведения ЛАЛ-реактива Endosafe.
3. Использовать буфер только в том случае, если раствор прозрачный и бесцветный.
4. Для измерения pH использовать электроды, совместимые с растворами Трис буфера.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Хранить флаконы при комнатной температуре. Раствор не замораживать.

ПРАВИЛА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Измерение значения pH реакционной смеси

1. Разводят испытуемый препарат до желаемой степени разведения, не превышающей значения МДР.
2. В апиrogenную пробирку добавляют равные части ЛАЛ-реактива и испытуемого раствора в выбранном разведении.
3. Проверяют pH реакционной смеси с помощью электрода, совместимого с Трис буфером. Если pH реакционной смеси выходит за рамки 6,5-8,0, то возможно, испытуемый образец не может быть проверен с помощью ЛАЛ-теста.
4. Добавляют необходимый объем 0,25 М основного Трис Буфера к испытуемому препарату до достижения значения pH реакционной смеси, оптимального для используемого метода проведения ЛАЛ-теста.

Проведение рутинных анализов

1. Если необходимость доведения pH возникает при проведении рутинных анализов, необходимо валидировать процедуру нейтрализации pH, используемую для преодоления действия мешающих факторов.
2. В идеале следует использовать 0,25 М основной раствор Трис буфера при подготовке первоначального разведения для того, чтобы минимизировать расход буфера и минимизировать степень разведения испытуемого препарата.
3. Если при проведении рутинных анализов необходимо доведение значения pH, то согласно фармакопейной статье «Бактериальные эндотоксины» (2) перед проведением анализа необходимо проводить измерения и регистрировать значения pH испытуемого раствора.
4. Для вспомогательных материалов, таких как органические кислоты или растворы, имеющие очень кислую реакцию, может оказаться необходимым первоначальное доведение значения pH таких материалов 0,1 М раствором NaOH перед их нейтрализацией с помощью 0,25 М основного раствора Трис буфера.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Cooper J.F. «Resolving LAL Test Interferences» J. Parent. Sci. & Tech., 44:1, p.13 (1990).
2. Bacterial endotoxin test <85>. In The U.S. Pharmacopeia, 37rd rev., United Book Press, Inc., Baltimore, MD.

CHARLES RIVER ENDOSAFE

Division of Charles River Laboratories, Inc.

1023 Wappo Road, Suite 43B

Charleston, SC 29407, USA

Phone: (800) 762-7016

FAX: (843) 766-7576