

БУФЕРНЫЙ РАСТВОР ТРИС HCl 0,1M
(Трис (гидрокси метил) амин метан)

НАЗНАЧЕНИЕ

Буферный раствор Трис HCl 0,1M используется для доведения значения pH при определении бактериальных эндотоксинов с помощью ЛАЛ-теста. Назначение раствора - доведение значения pH испытуемого раствора 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.

Наиболее распространенная причина ингибирования – значение pH реакционной смеси, выходящее за рамки оптимального (1). ЛАЛ-реактивы производства Charles River Endosafe, предназначенные для проведения гель-тромб теста и кинетических анализов (хромогенного и турбидиметрического), содержат буфер и, таким образом, способны компенсировать незначительные отклонения pH испытуемого препарата. Идеальным способом преодоления ингибирования является разведение испытуемого препарата. 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. Лучшим способом нейтрализации испытуемого образца при проведении ЛАЛ-теста является подготовка его первоначальных разведений с помощью буферного раствора Трис HCl 0,1 M.

СОСТАВ

Каждый флакон содержит 5,5 мл буферного раствора, содержащего 0.1 моль трис-(гидрокси метил)-амина метана со значением pH 7,4. 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®. Буферный раствор может быть использован для разведения ЛАЛ-реактива Endosafe®-КТА, предназначенного для проведения кинетического турбидиметрического теста на приборе LAL-5000, когда в анализе отношение ЛАЛ-реактива и испытуемого препарата составляет 1:4.

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 температуре 2 – 30° С. Не замораживать.

ПРАВИЛА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Измерение значения pH реакционной смеси

1. Разводят испытуемый препарат до желаемой степени разведения.
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. Оптимальным условием использования буферного раствора Трис HCl 0,1 М является подготовка с его помощью как минимум одного, первого разведения испытуемого препарата в отношении 1:10. Буферный раствор следует использовать для подготовки разведений до достижения значения pH реакционной смеси, оптимального для используемого метода проведения ЛАЛ-теста.

Проведение рутинных анализов

1. В идеале следует использовать раствор Трис HCl 0,1М буфера при подготовке первоначального разведения для того, чтобы достигнуть максимального эффекта от добавления буфера и разведения.
2. Если необходимость доведения pH возникает при проведении рутинных анализов, необходимо валидировать процедуру нейтрализации pH, используемую для преодоления действия мешающих факторов.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Cooper J.F. «Resolving LAL Test Interferences” J. Parent. Sci. & Tech., 44:1, p.13 (1990).
2. Guideline on the Validation of the Limulus Amebocyte Lysate Test As an Endproduct Endotoxin Test for Human and Animal Parenteral Drugs, Biological Products, and Medical Devices. U.S. Dept. of Health & Human Services, FDA, December 1987.

CHARLES RIVER ENDOSAFE

Division of Charles River Laboratories, Inc.

1023 Wappo Road, Sute 43B

Charleston, SC 29407, USA

Phone: (800) 762-7016

FAX: (843) 766-7576