

**БУФЕРНЫЙ РАСТВОР ТРИС HCl 0,1M**  
**(Трис (гидроксиметил) аминметан)**

**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 30 мл буферного раствора, содержащего 0.1 моль трис-(гидроксиметил)-аминметана 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 комнатной температуре.

### **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. 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, Sute 43B

Charleston, SC 29407, USA

Phone: (800) 762-7016

FAX: (843) 766-7576