

Подтверждение заявленной чувствительности ЛАЛ-реактива

Это пошаговое руководство, изображающее схему проведения анализа «Подтверждение заявленной чувствительности ЛАЛ-реактива». Перед тем как начать процедуру анализа, следует дать реактивам прогреться до комнатной температуры.

Шаг 1

Разведите контрольный стандарт эндотоксина (КСЭ) объемом воды для ЛАЛ-теста, указанным в сертификате анализа. Исходный раствор имеет концентрацию 1000 ЕЭ/мл.



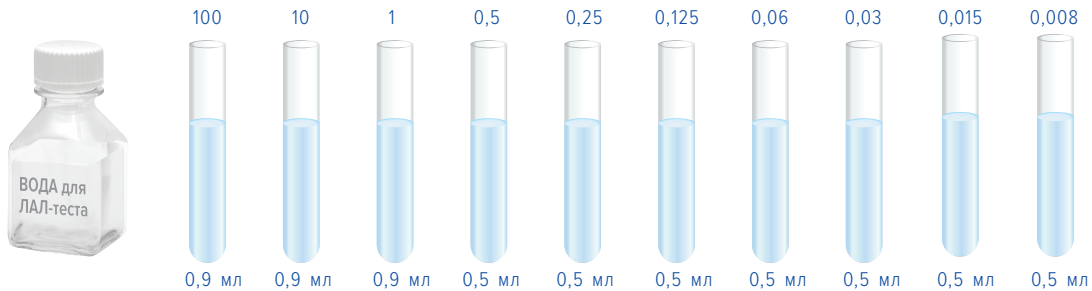
Шаг 2

Перемешайте исходный раствор КСЭ на вортексе в течение 2-х минут.



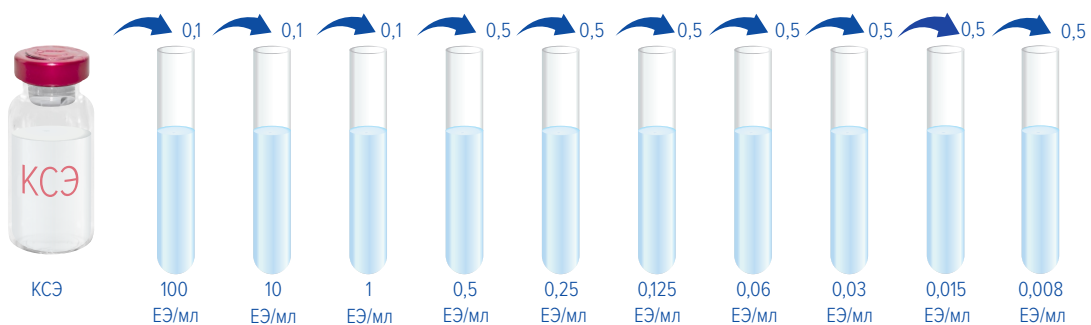
Шаг 3

Подпишите пробирки с соответствующей концентрацией эндотоксина и внесите в них необходимый объем воды для ЛАЛ-теста. В пробирки 100, 10 и 1 внесите по 0,9 мл воды для ЛАЛ-теста, в остальные пробирки внесите по 0,5 мл воды для ЛАЛ-теста.



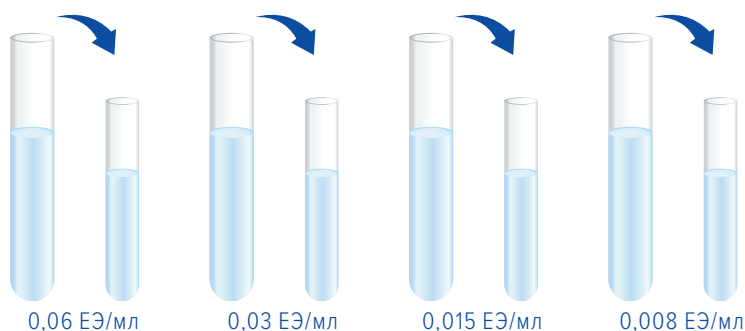
Шаг 4

Используя исходный раствор с концентрацией 1000 ЕЭ/мл, приготовьте серию двукратных разведений, равных 2λ, λ, 0,5λ и 0,25λ (в данном примере используется ЛАЛ-реактив с чувствительностью 0,03 ЕЭ/мл).



Шаг 5

Внесите по 100 мкл каждого раствора стандарта эндотоксина в четырех повторностях в соответствующие пробирки 10x75 мм.



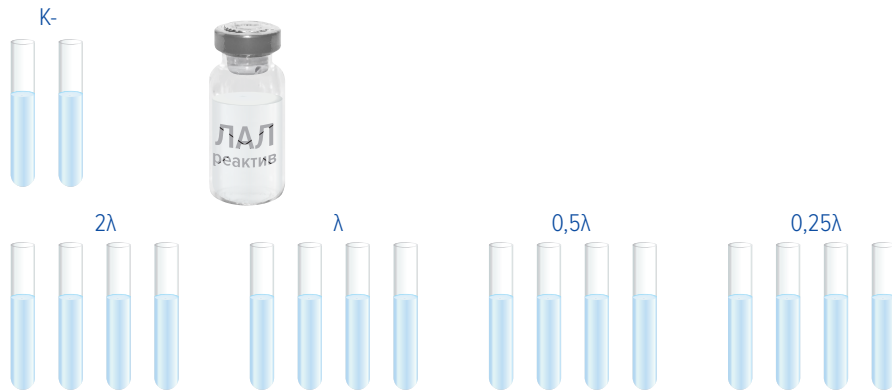
Шаг 6

В две пробирки К- внесите по 100 мкл воды для ЛАЛ-теста.
Непосредственно перед использованием разведите ЛАЛ-реактив и плавно перемешайте.



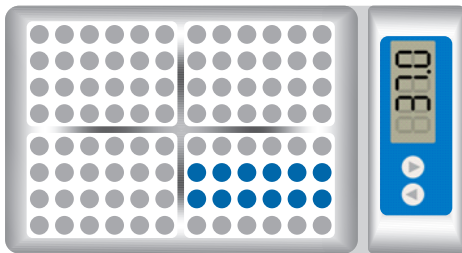
Шаг 7

Добавьте в каждую пробирку по 100 мкл ЛАЛ-реактива.



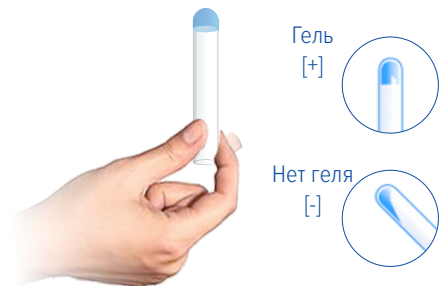
Шаг 8

Поместите пробирки при температуре 37°C на 60 минут в водяную баню без циркуляции воды или в термоблок.
Внимание: водяная баня или термоблок должны быть расположены вдали от всех источников вибрации, которые могут нарушить образование геля.



Шаг 9

После инкубирования в течение 60 минут (± 2 минуты) аккуратно извлеките пробирки по одной и переверните на 180°C. Запишите результаты реакции как положительные или отрицательные.



Интерпретация результатов

Анализ считают достоверным, если:

- в пробирках К- и 0,25λ получены отрицательные результаты,
- в пробирках 2λ получены положительные результаты.

Конечной точкой реакции для каждой повторности является положительный результат, полученный для раствора с наименьшей концентрацией КСЭ. По этим результатам рассчитывается среднее геометрическое значение чувствительности ЛАЛ-реактива по следующей формуле:

Среднее геометрическое значение концентраций КСЭ в конечной точке реакции

$$= \frac{\sum e}{\text{antilog}(f)}$$

Где:

- $\sum e$ – сумма логарифмов концентраций КСЭ в конечной точке реакции в каждой из повторностей;
- f – количество повторностей