

# НАБІР ІФА ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ПЕНІЦИЛІНУ В ПРОДУКТАХ ХАРЧУВАННЯ

## 5127-8, Penicillin

Каталог. №: 5127-8

Методика від 09-27-2010

Кількість : 96

Виробник : DAI, (США)



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

Чутливість	3 нг/мл
Відновлення (Молоко)	90 %
Відновлення (Креветки)	70 %
Загальний час	140 хвилин

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ (Див. оригінал інструкції англ. мовою).

### ПРИНЦИП ТЕСТУ

**Кількісний тест DAI Пеніцилін** заснований на принципі твердофазного імуоферментного аналізу. Мікропланшет покритий кон'югатом Пеніциліну. Стандарти та зразки, що містять Пеніцилін, та антитіла до Пеніциліну додаються в лунки. Імобілізовані та вільні Пеніцилін конкурують за сайти зв'язування з антитілами. Після 1 години інкубації при кімнатній температурі лунки промиваються з розведеним Розчином для промивання для видалення не зв'язаного матеріалу. Кон'югат пероксидази, спрямовані проти антитіл до пеніциліну, додається в лунки і після ще однієї години інкубації планшет знову промивають. Додають розчин субстрату і інкубують протягом 20 хвилин, в результаті відбувається розвиток синього кольору. Розвиток кольору перешкоджається додаванням стоп-розчину, а колір змінюється на жовтий. Жовтий колір вимірюється фотометрично при 450 нм. Концентрація Пеніциліну обернено пропорційна інтенсивності кольору зразка.

### ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Повна відповідність наступним принципам належної лабораторної практики (GLP) визначатиме достовірність результатів:

1. Перед початком процедури аналізу доведіть все реагенти до кімнатної температури (20-25 °C).
2. Всі реагенти повинні бути змішані шляхом обережного перевертання або прокручування перед використанням. Не приводити до утворення піни.
3. Після того, як аналіз був запущений, всі наступні кроки мають бути завершені без перерви і в межах рекомендованих термінів.
4. Закрити кришками всі реагенти відразу ж після використання. Не мийте пробки на флаконах.
5. Використовуйте окремі одноразові наконечники для кожного зразка, щоб запобігти перехресного забруднення.
6. Всі зразки і стандарти мають бути запущені одночасно, так, щоб всі умови випробувань були однаковими.
7. Не змішуйте компоненти з різних партій.
8. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності.
9. Перевірте як точність, так і достовірність лабораторного обладнання, що використовується під час процедури (мікропіпетки, ІФА читач і т.д.).

### ІНСТРУКЦІЇ З ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ

1. Не паліть, не їжте, не пийте і не піпетуйте ротом в лабораторії.
2. Використовуйте одноразові рукавички при роботі із зразками пацієнтів.
3. Уникайте контакту субстрату і стоп-розчину зі шкірою і слизовою оболонкою (можливе подразнення, опіки або токсична небезпека). У разі контакту, промийте уражену зону з великою кількістю води.
4. Робота та утилізація хімічних продуктів має проводитись відповідно до принципів роботи належної лабораторної практики (GLP).

### РЕАГЕНТИ

Набір містить реагенти для 96 визначень. Вони повинні зберігатися при температурі 2-8 °C. Дані експірації знаходяться на етикетках пляшок і зовнішній упаковці.

1. Мікропланшет, що складається з 12 смужок по 8 лунок кожна, покритих кон'югатом пеніциліну.
2. Стандарти Пеніциліну (0, 4, 10, 40, 100, 400 нг/мл): 6 флаконів 1.0 мл кожен, готові до використання.
3. Антитіло анти-Пеніцилін (миша): 6 мл, червоного кольору, готовий до використання.
4. Кон'югат (анти-мишачий-IgG-HRP): 15 мл, червоного кольору, готовий до використання.
5. Розчин субстрату (ТМБ): 15 мл; готовий до використання.
6. Стоп розчин (0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>): 15 мл; готовий до використання.
7. Розчин для розведення зразків (PBS): 2x50 мл, червоного кольору, готовий до використання.
8. Промивний Розчин (PBS + Твін 20): 60 мл, як 10x концентрату, синього кольору. Розвести 1+9 дистильованою водою. Якщо протягом зберігання в холоді утворилися кристали, концентрат необхідно нагріти до 37 °C протягом 15 хвилин.
9. Дві пластикові плівки для покриття смужок під час інкубації.
10. Пластиковий пакет для зберігання невикористаних смужок.
11. Керівництво по експлуатації.

### ДОДАТКОВІ ІНСТРУМЕНТИ І РЕАКТИВИ (НЕ ВХОДЯТЬ ДО НАБОРУ)

#### Вимірювальні прилади

- Мікропіпетки на 50, 100, і 1000 мкл
- Мікропланшетний шейкер
- ELISA зчитувач (450 нм)
- Ultra-Tuğгах, змішувач
- Центрифуга

### ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

#### Креветки

- Гомогенізувати зразок у відповідному пристрої (змішувач, Ultra-Tuğгах).
- Додати до 1 г гомогенізованого зразка 4 мл розведеного Розчинника для зразків в скляний флакон і перемішати енергійно протягом 20 хвилин.
- Центрифугувати протягом 10 хвилин при 3000g.
- Розвести супернатант 1: 5 в розбавленому розчиннику для зразка. Цей розчин тепер може бути безпосередньо переміщений в ELISA.

#### Молоко

- Піпетувати 5 мл зразка свіжого молока (Цілісне молоко або знежирене молоко) в скляну посудину і витримати протягом 30 хвилин при температурі 2-8 °C.
- Зразок центрифуги згодом протягом 10 хвилин при 3000g.
- Відокремити верхній шар жиру і розвести молоко 1: 4 в розбавленому Розчиннику зразка. Цей розчин тепер може бути безпосередньо переміщений в ELISA.

### ПРОЦЕДУРА

1. Підготувати зразки, як описано вище.
2. Внести 100 мкл готових до використання стандартів або підготовлених зразків в двох примірниках у відповідні лунки планшета. Відразу додати 50 мкл антитіл Пеніциліну в кожную лунку.
3. Накрити планшет з пластиковою плівкою і інкубувати протягом 60 хвилин при кімнатній температурі на шейк ері (або 90 хвилин без шейкера).
4. Промити пластини три рази таким чином: Піпетувати 300 мкл розведеного млячого розчину в кожную лунку. Видалити вміст лунок, перевернувши планшет і постукати ним по паперовому рушнику. Повторіть описану вище процедуру три рази. Процедура промивання є критичною. Недостатня промивка призводить до низької точності і завищеним значенням абсорбції.
5. Внести 100 мкл розчину субстрату в кожную лунку.
6. Накрити планшет з пластиковою плівкою і інкубувати протягом 60 хвилин при кімнатній температурі на шейк ері (або 90 хвилин без шейкера).
7. Промити планшет як в кроці 4.
8. Внести 100 мкл розчину субстрату в кожную лунку.
9. Залишити в темряві (наприклад, шафа або ящик; хромоген є світлочутливим) протягом 20 хвилин при кімнатній температурі.
10. Зупинити ферментативну реакцію додаванням 100 мкл стоп-розчину (0.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) у кожную лунку. Синій колір змінюється на жовтий при додаванні.
11. Після ретельного перемішування виміряти поглинання при 450 нм (референтна довжина хвилі 620 нм), використовуючи ІФА-

рідер. Забарвлення залишається стабільним протягом 30 хвилин.

#### ПІДРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

1. Розрахувати середнє значення оптичної щільності (OD 450 нм) для кожного набору стандартів або зразків.
2. Побудувати стандартну криву, відкладаючи середню оптичну щільність, отриману для кожного стандарту, проти його концентрації в нг/мл на напівлогарифмічному міліметровому папері з оптичною щільністю на вертикальній (Y) вісі і концентрацією на горизонтальній (X) вісі.
3. Використовуючи середнє значення оптичної щільності для кожного зразка, визначити відповідну концентрацію Пеніциліну в нг/мл за стандартною кривою. Залежно від досвіду і/або можливостей комп'ютера, можуть бути використані інші методи обробки даних.
4. Розведені зразки повинні бути надалі перетворені з використанням відповідного коефіцієнта розведення. Коефіцієнт розведення **20 для креветок** і **4 для екстракції молока** згідно з процедурою приготування зразка, як описано вище.

#### ТИПОВІ СТАНДАРТНІ ЗНАЧЕННЯ

У наступній таблиці наведено приклад для типової калібрувальної кривої. Зв'язування розраховують як відсоток поглинання стандарту 0 нг/мл. Ці значення є лише прикладом і не повинні використовуватись замість стандартної кривої, яка повинна бути виміряна в кожному новому випробуванні.

Пеніцилін (нг/мл)	(% зв'язування 0 нг/мл)
0	100
4	85
10	70
40	35
100	15
400	5

#### РОБОТА АНАЛІЗУ

##### Чутливість

Чутливість **DAI Афлатоксин M1 ELISA** складає 3 нг/мл (на основі стандартної кривої).

##### Відновлення

Відновлення насичених зразків було визначено до 90% для молока і 70% для креветок.

##### Внутрішньосерійна Точність

Внутрішньосерійна Точність складає 3 %.



#### ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

ТОВ «ДІАМЕБ»  
вул. Чорновола, 97  
м. Івано-Франківськ, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)