

НАБІР ІФА

ДЛЯ СКРИНІНГУ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ НА НАЯВНІСТЬ *SALMONELLA*

8326-3, Salmonella Antigen Detection (In Food)

Каталог. №: 8326-3

Методика від 07-15-2009

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.

ПРИЗНАЧЕННЯ ЗАСТОСУВАННЯ

Набір DAI Salmonella аналіз являє собою твердофазовий імуоферментний аналіз (ELISA), який може бути використаний для скринінгу збагачених культур їжі, харчових продуктів, кормів для тварин, проб навколишнього середовища і фекалій тварин і птахів на наявність Salmonella.

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

ПРИНЦИП ТЕСТУ

Тестові зразки культивують відповідно до рекомендацій і частину бульйонної культури нагрівають, щоб вивільнити антигени Salmonella і для інактивації бактерій перед додаванням в лунки. Під час першої інкубації, антиген Salmonella LPS у зразку захоплюється антитілами, прикріпленими до лунок. У другій інкубації моноклональні антитіла анти-Salmonella, кон'юговані з пероксидазою, зв'язуються з захопленими антигенами Salmonella. Після промивань для видалення нез'язаного ферментного кон'югату, додається хромоген, який розвиває синій колір у присутності ферментного комплексу і перекису. Стоп розчин зупиняє реакцію і перетворює синій колір на жовтий.

РЕАГЕНТИ

- Тестові смужки, покриті козячими антитілами анти-Salmonella: 96 лунок.
- Тримач смужок: один (1).
- Негативний контроль: 1 (один) флакон з 2 мл буферної основи.
- Позитивний контроль: Один (1) флакон, що містить 2 мл інактивованого антигену Salmonella LPS в буферній основі.
- Ферментний Кон'югат: 1 (одна) пляшка, що містить 11мл моноклональних антитіл анти-Salmonella, кон'югованих з пероксидазою в буфері з консервантом.
- Хромоген: Один (1) флакон, що містить 11 мл хромогену Тетраметилбензидину (ТМБ).
- Промивний концентрат 20X: Один (1) або два (2) флакони, що містять 25 мл концентрованого буфера і сурфактанта з консервантом.
- Стоп розчин: один (1) флакон, що містить 11 мл 1М фосфорної кислоти.

Додаткові Необхідні матеріали:

- Інкубатор(и), здатний працювати при температурах 35-42 °С, з можливістю стряхування.
- Microelisa рідер, здатний проводити біхроматичне зчитування при 450/620-650 нм (опційно)
- Промивна пляшка, що стискається, з тонким наконечником, або мікропланшетний/мікролунковий промивач.
- Піпетка 100 мкл
- Одноразові наконечники для мікропіпеток
- 1-2 мл пробірки з кришками, які залишаються герметичними при 100 °С (для нагріву зразків бульйонних культур перед тестуванням).
- Нагрівальний блок, водяна баня або автоклав для пробірок 1-2 мл, підтримуючий 100 °С.
- Відповідні контейнери для зберігання та утилізації матеріалів, потенційно заражених з інфекційними агентами
- Листки запису даних
- Дезінфікуючий розчин

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Не використовуйте розчини, якщо вони випадають в осад або стають мутними.

Вияток: Промивний концентрат може випадати в осад при зберіганні в холодильнику, але розчиняється після нагрівання.

- Не додавати азиди в зразки або в реагенти.
- Деякі реагенти містять консервант.
- Поводитись з реагентами та зразками як з потенційно інфекційним матеріалом. Будьте обережні, щоб не допустити утворення аерозолів і знезаражувати будь-яке розбрикування зразків.
- Промивка має вирішальне значення для належного виконання тесту.

ЗБЕРІГАННЯ

Реагенти, смужки і компоненти в пляшках: Зберігати при 2 -7 °С. Гнучка пляшка з розведеним промивальним буфером може зберігатися при кімнатній температурі.

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Промивний буфер - Зніміть ковпачок і додайте вміст однієї пляшки промивального концентрату в гнучку пляшку з 475 мл дистильованої води. Перемістити Розчин розведеного промивного буфера у гнучку пляшку (пляшка з маленьким наконечником) або в резервуар мікропланшетного/лункового промивача.

ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

1. Помістити зразки в попередньо збагачене середовище (буферизована пептонова води або живильний бульйон) стандартними методами, зазвичай - 1 об'єм проби в 9 об'ємах попередньо збагаченого середовища (наприклад, 25 г в 225 мл). Для рідких зразків з великими об'ємами може бути кращим, щоб підготувати заздалегідь збагачені середовища, наприклад, 2X, 5x або 10X концентрат і додати об'єм до зразка, що призводить до концентрації 1X середовища.
2. Інкубувати при 37 °С протягом 18-24 годин (крок реанімації та попереднього збагачення).
3. Перемістити 0.5 мл попередньо збагаченої культури до 10 мл бульйонної культури збагачення.
4. Інкубувати при 42 °С протягом 18-24 годин при струшуванні на швидкості 120 об./хвилину, якщо можливо.
5. Перемістити 1 мл кожної селективної культури збагачення в окрему чисту пробірку 1-2 мл для зразка.
6. Нагріти пробірку(и) при 100-110 °С протягом 10 хвилин, потім дати їй охолонути до 20-25 °С.

ПРОЦЕДУРА

1. Відірвати необхідну кількість лунок (кількість зразків плюс 2 для контролей) і помістити в тримач.
2. Додати 100 мкл негативного контролю в лунку № 1 і 100 мкл позитивного контролю в лунку № 2 (обидва використовувати не розведеними).
3. Додати 100 мкл випробуваного зразка у відповідну лунку.
4. Інкубувати при кімнатній температурі (від 15 до 25 °С) протягом 30 хвилин, потім промити.*
5. Додати 2 краплі ферментного кон'югату (червоний розчин) у кожен лунку.
6. Витримати протягом 15 хвилин, потім промити. Витрясти зайву рідину на рушник.
7. Додати 2 краплі хромогену в кожен лунку.
8. Інкубувати протягом 5 хвилин.
9. Додайте 2 краплі стоп-розчину в кожен лунку. Перемішати лунки, обережно постукуючи тримач смужок вказівним пальцем.
10. Зчитати результати візуально або при 450/620-650 нм. Обнулити зчитувач проти повітря.

* Кожне промивання складається з видалення вмісту лунок у відповідний контейнер з дезінфікуючим розчином (наприклад, 3 % розчин відбілювача у воді) і використання розведеного промивного буфера, щоб заповнити кожен лунку, перемішати вміст і заповнити лунки в цілому 3 рази. При використанні мікролункового промивного пристрою, промити три рази з об'ємом промивного розчину, який заповнює лунки (300 мкл). Зразки з липкими частинками можуть потребувати більш ретельного промивання, ніж інші зразки. Існує потенційна можливість хибно позитивних результатів, якщо зразок не ретельно вимитий з лунки перед додаванням наступних реагентів.

Тільки один набір контролей потрібен для аналізу. Зчитати результати протягом 4 годин з моменту додаванням стоп розчину. Всі інкубації відбуваються при кімнатній температурі (15-25 °С).

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ - ВІЗУАЛЬНА

Позитивний результат: Будь-яка лунка, яка має значний і очевидний жовтий колір.

Негативний результат: Будь-яка лунка, яка не має значного і очевидного жовтого кольору.

ПРИМІТКА: Негативний контроль, а також деякі зразки, можуть демонструвати слабе забарвлення.

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ – ЗЧИТУВАННЯ ОПТИЧНИХ ЩІЛЬНОСТЕЙ

Обнулити зчитувач проти повітря. Зчитати всі лунки, використовуючи біхроматичне зчитування з фільтрами при 450 нм і 620 - 650 нм.

Позитивний: Значення ОЩ 0.15 і вище вказує, що зразок містить антиген *Salmonella*.

Негативний: Значення ОЩ менше 0.15 вказує, що зразок не містить антигенів *Salmonella* в рівнях, які можуть бути виявлені.

ОЦІНКА ТЕСТУ

Аналітична чутливість ІФА складає приблизно від 10^5 до 10^6 CFU в мл для обох *S. Enteritidis* і *S. Typhimurium*.

Двадцять шість еталонних штамів, які не містять *Salmonella*, що містять 18 різних видів бактерій (в каталозі доступні за запитом) були нереактивні в ELISA. Всі серологічні варіанти сальмонел з 19 серогруп були реактивними в ІФА, крім тих, які належать до серогруп О і Р. Ці дві серогрупи, як правило, не ізольовані від харчування і проб навколишнього середовища і дуже рідко бувають пов'язані з людською хворобою.

Тридцять з 51 курячої тушки містили *Salmonella*. Обидва, ELISA і стандартний метод культивування, виявили 29 з 30 істинних позитивних результатів і кожен метод дав один хибний негативний результат. Єдиний хибно негативний результат був позитивним в ELISA на повторному щепленні МК + п бульйону з бульйоном BPW.

Таким чином, ELISA має специфічність 100% і чутливість 96.7% по відношенню до стандартного методу.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Позитивні і Негативні контролю повинні використовуватися кожен раз, коли проводиться аналіз.

Для дійсного результату, негативний контроль повинен бути нижче 0.5 ОЩ і Позитивний Контроль більший, ніж на 0.15 одиниць ОЩ. Якщо один з контролей знаходиться поза діапазоном, не використовуйте комплект і зверніться до Технічної служби.



ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

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