

НАБІР ІФА

ДЛЯ СКРИНІНГУ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ НА НАЯВНІСТЬ АНТИГЕНУ VEROTOXIN

8328-3, Verotoxin Antigen Detection (In Food)

Каталог. №: 8328-3

Методика від 07-16-2009

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 Verotoxin** являє собою імуноферментний аналіз твердої фази (ELISA), який може бути використаний для скринінгу харчових продуктів на наявність антигенів *Verotoxin*.

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

ПРИНЦИП ТЕСТУ

Під час першої інкубації, антиген *Verotoxin* у зразку захоплюється антитілами, прикріпленими до лунок. Під час другої інкубації додаються додатковий коктейль антитіл анти-*Verotoxin*, який захоплює антиген по типу «сандвіч». Наступна інкубація прикріплює пероксидазу хрому до «сандвіча». Після промивань для видалення незв'язаного ферменту додається хромоген, який розвиває синій колір у присутності ферментного комплексу і перекису. Стоп розчин зупиняє реакцію і перетворює синій колір на жовтий.

РЕАГЕНТИ

- Мікролункові тестові смужки, покриті кролячими антитілами анти-*Verotoxin* (VT1 і VT2): 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 *Verotoxin* в буферній основі.
- Реагент 1: 1 (один) флакон, що містить 11 мл моноклональних антитіл анти- *Verotoxin* в буфері з консервантом.
- Реагент 2: 1 (один) флакон, що містить 11 мл анти-мишиних антитіл, кон'югованих з пероксидазою хрому, в буфері з консервантом.
- Хромоген: Один (1) флакон, що містить 11 мл хромогену Тетраметилбензидину (ТМБ).
- Промивний концентрат 20X: Два (2) флакони, що містять 25 мл концентрованого буфера і сурфактанта з консервантом.
- Стоп розчин: один (1) флакон, що містить 11 мл 1M фосфорної кислоти.

Додаткові Необхідні матеріали:

- Stomacher (Tekmar Stomacher лабораторний блендер 400) або блендер
- Інкубатор для струшування або аналогічний інкубатор
- Microelisa рідер, здатний зчитувати біхроматично при 450/650 нм (опційно)
- Інкубатор, 37 °C
- Піпетки, 100 мкл
- Одноразові наконечники для мікропіпеток
- Мікробіологічне середовище та антибіотики для приготування необхідних розчинів по збагаченню: Новобіоцин (Сігма N1628) Модифікований збагачувальний розчин ЄС (BBL # 11187 або Діфко # 0314-01-0)
- Відповідні контейнери для зберігання та утилізації матеріалів, забруднених інфекційними агентами
- Листки запису даних
- Дезінфікуючий розчин

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

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

ЗБЕРІГАННЯ

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

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Промивний буфер - Зніміть ковпачок і додайте вміст однієї пляшки промивального концентрату до 475 мл дистильованої води. Перемістити вміст в Гнучку пляшка з вузьким наконечником.

ПІДГОТОВКА СЕРЕДОВИЩА

Збагачувальний Розчин ЄС з Новобіоцином (mEC + n)

1. Змішайте наступні компоненти з 1 л дистильованої води (якщо приготоване середовище не використовується):

Триптон	20.0 г
Лактоза	5.0 г
K ₂ HPO ₄	4.0 г
KH ₂ PO ₄	1.5 г
NaCl	5.0 г
Солі жовчних кислот # 3	15 г

pH до 6.9 ± 0.1
2. Автоклавувати при 121 °C протягом 15 хвилин.
3. Дозволити охолонути до кімнатної температури і додати 1 мл стерилізованого фільтруванням водного розчину 20 мг/мл Новобіоцину. (Для 225 мл додати 0.225 мл розчину Новобіоцину). Кінцева концентрація повинна бути 20 мкг/мл.

ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

1. Додати 225 мл mEC+n до 25 г харчового продукту в стерильний пакет Stomacher або в ємність блендера.
2. Подрібнити або перемішати зразок і збагачувальний розчин протягом 2 хвилин.
3. Перемістити пакет Stomacher в шейкер при 37 °C або, альтернативно перемістити вміст блендера в стерильну колбу і прикріпити до шейкера.
4. Інкубувати пакети Stomacher або колби при 37 °C при струшуванні (120 оборотів в хвилину) протягом 18 годин.
5. Взяти 1 мл аліквоти з кожного зразка і помістити в окрему чисту пробірку з кришкою, що закручується. Це і є зразок, який буде використовуватися в аналізі.

ПРОЦЕДУРА

1. Відірвати необхідну кількість лунок (кількість зразків плюс 2) 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 (15-25 °C) протягом 30 хвилин, потім промити.*
5. Додати 2 краплі Реагенту 1 (синій розчин) у кожен лунку.
6. Інкубувати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин, потім промити.
7. Додати 2 краплі Реагенту 2 (червоний розчин) у кожен лунку.
8. Інкубувати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин, потім промити. Витрясти зайву рідину на рушник.
9. Додати 2 краплі хромогену в кожен лунку.
10. Інкубувати протягом 10 хвилин.
11. Додайте 2 краплі стоп-розчину в кожен лунку. Перемішати лунки, обережно постукуючи тримач смужок вказівним пальцем.
12. 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. 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.

Контролі мають бути включені в кожен постановку.

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. Лунка зі зразком повинна бути явно темнішою, ніж лунка з негативним контролем, щоб результат був прийнятий як позитивний.

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.

Негативний: Значення ОЩ менші за 0.15.

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.

Проблема: Негативний контроль значно розвинув колір.

Корекція: Промивання було недостатнім. Повторіть тест з більш інтенсивнішим промиванням.



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
www.diameb.com