



МУЛЬТИСКРИН® Амоксициллин

Набор реагентов для определения амоксициллина в пищевой продукции методом конкурентного иммуноферментного анализа

Версия 02-2023

Анализ in vitro

Хранить при 2-8°C

Пожалуйста, по вопросам технической поддержки и дополнительной информации обращайтесь к производителю или официальному дистрибьютору на территории Вашей страны:



Производитель:
ОДО "КомПродСервис"
ул. Филимонова, 25Г, г. Минск
+375 17 336 50 54
info@komprod.com
www.komprod.com

Техническая поддержка
support@komprod.com
+375 17 336 50 54

Официальный дистрибьютор в России:

ООО "НеоТест"
ул. Раstopчина, 1Г, г. Владимир
+7 499 649 02 01
info@neo-test.ru
www.neo-test.ru

Техническая поддержка
support@neo-test.ru
+7 499 704 05 50



МУЛЬТИСКРИН® Амоксициллин

1. Принцип работы

Принцип работы набора для обнаружения амоксициллина основан на конкурентном иммуноферментном анализе. Лунки иммунологического планшета сенсibilизированы амоксициллином. Амоксициллин в образце и амоксициллин, локализованный на поверхности лунок, конкурируют за связывание со специфическими антителами. После последовательного добавления в лунки ферментного конъюгата и тетраметилбензида (ТМБ) происходит окрашивание раствора. Значение оптической плотности (ОП) раствора отрицательно коррелирует с концентрацией амоксициллина в образце.

2. Технические характеристики

Чувствительность: 0,2 ppb

Температура инкубации: 25°C

Время инкубации: 30 мин ~ 15 мин

Предел обнаружения:

Ткани, яйцо, молоко 4 ppb

Примечание: ppb = нг/мл = нг/г

Перекрестная реактивность:

Амоксициллин 100%

Степень извлечения:

80±15%

3. Состав набора

1	Планшет	12 стрипов по 8 лунок
2	6 стандартных растворов (1 мл каждый)	0 ppb 0.2 ppb 0.6 ppb 1.8 ppb 5.4 ppb 16.2 ppb
3	Ферментный конъюгат, концентрат 11X	0.7 мл
4	Раствор для разведения конъюгата	7 мл
5	Субстрат А	7 мл
6	Субстрат В	7 мл
7	Стоп раствор	7 мл
8	Промывочный буфер, концентрат 20X	30 мл
9	Раствор для разведения образца	20 мл

4. Дополнительные материалы

1) Оборудование: ридер микропланшетов (450 нм, 630 нм), роторный испаритель/устройство для сушки азотом, гомогенизатор, осциллятор,

центрифуга (3000 г и выше), весы (точность 0,01 г), мерные пипетки, инкубатор (регулируемый 25 °С), таймер;

2) микропипетки: одноканальные 20~200 мкл и 100~1000 мкл и восьмиканальные 30~300 мкл;

3) Реагенты: деионизированная вода, концентрированная соляная кислота (ч.д.а.).

5. Пробоподготовка

Инструкции (следующие пункты должны быть изучены перед работой)

1) Для анализа можно использовать только одноразовые наконечники, их необходимо менять при использовании различных реагентов и образцов;

2) Посуда для анализа должна быть чистой и при необходимости подвергаться повторной обработке, чтобы примеси не попали в образцы.

Подготовка растворов перед пробоподготовкой:

1) Промывочный буфер: 20-кратный концентрированный промывочный буфер разбавить водой в соотношении 1:19 (напр., 1 мл концентрированного буфера + 19 мл деионизированной воды);

2) 1М HCl: возьмите 8,6 мл концентрированной соляной кислоты в мерную колбу на 100 мл и доведите до метки деионизированной водой.

5.1 Ткани

1) Взвесьте $1,0 \pm 0,05$ г образца ткани в центрифужную пробирку объемом 10 мл; добавьте 4 мл деионизированной воды, перемешайте на высокой скорости в течение 1 мин; отцентрифугируйте при >3000 г при комнатной температуре (20–25 °С) в течение 5 мин;

2) Отберите 200 мкл прозрачной жидкости верхнего слоя в центрифужную пробирку на 2 мл, добавьте 200 мкл раствора для разведения образца, равномерно перемешайте с помощью вортекса в течение 10 с;

3) Используйте 50 мкл для анализа.

Коэффициент разбавления: 10

5.2 Яйцо

1) Взвесьте $1,0 \pm 0,05$ г яйца в центрифужную пробирку объемом 10 мл. Добавьте 4 мл деионизированной воды, затем 150 мкл 1М HCl. Перемешайте с помощью вортекса на высокой скорости в течение 1 мин. Отцентрифугируйте при >3000 г при комнатной температуре (20–25 °С) в течение 5 мин.

2) Отберите 200 мкл прозрачной жидкости верхнего слоя в центрифужную пробирку на 2 мл, добавьте 200 мкл раствора для разведения образца, перемешайте с помощью вортекса в течение 10 с и равномерно перемешайте;

3) Используйте 50 мкл для анализа.

Коэффициент разбавления: 10

5.3. Молоко

1) Взвесьте 1,0 мл образца молока в центрифужную пробирку на 10 мл. Добавьте 4 мл деионизированной воды, затем 40 мкл 1М HCl. Перемешайте с помощью вортекса на высокой скорости в течение 1 мин. Отцентрифугируйте при >3000 g при комнатной температуре (20–25 °C) в течение 5 мин.

2) Отберите 200 мкл прозрачной жидкости верхнего слоя в центрифужную пробирку на 2 мл, добавьте 200 мкл разбавителя образца, равномерно перемешайте с помощью вортекса в течение 10 с.

3) Используйте 50 мкл для анализа.

Коэффициент разбавления: 10

6. Процедура анализа

6.1 Инструкции

1. Перед использованием доведите реагенты набора до комнатной температуры (20–25 °C).

2. Храните реагенты при температуре 2-8 °C после использования.

3. Воспроизводимость ИФА в процессе анализа во многом зависит от качества промывки планшета.

4. Во время всего процесса инкубации при постоянной температуре избегайте воздействия света, закрывайте микропланшет защитной мембраной.

6.2 Порядок работы

1. Оставьте набор при комнатной температуре (20-25 °C) не менее, чем на 30 мин; каждый реагент перед использованием необходимо тщательно встряхнуть.

2. Поместите необходимое количество стрипов в рамки планшета. Неиспользованные лунки можно хранить в упаковке от микропланшета при 2-8 °C, не замораживать.

3. Нумерация: подпишите лунки в соответствии с названиями исследуемых образцов и стандартных растворов; каждый образец и стандартный раствор должны быть выполнены в двух параллелях.

4. **Добавление образца:** добавьте 50 мкл образца или стандартного раствора в лунки в двух параллелях. **Приготовьте конъюгат:** смешайте концентрированный ферментный конъюгат и раствор для разведения конъюгата в соотношении 1:10 (Примечание: обязательно хорошо перемешайте). **Добавьте разбавленный ферментный конъюгат** по 50 мкл в каждую лунку. Аккуратно перемешайте, встряхивая планшет вручную, закройте микропланшет пленкой и инкубируйте при 25 °C в темноте в течение 30 минут.

5. Вылейте всю жидкость из микролунок, добавьте по 250 мкл на лунку промывочного буфера на 15–30 секунд и вылейте. Повторите промывку 3–4 раза.

6. Добавьте по 100 мкл смеси субстрата А и субстрата В в каждую лунку (Примечание: смешайте субстрат А и субстрат В в соотношении 1:1, смесь следует использовать в течение 10 минут после приготовления, никогда не используйте металлический контейнер для перемешивания раствора). Аккуратно перемешайте, встряхивая планшет вручную, и инкубируйте при 25 °С в течение 10–15 минут в темноте для окрашивания.

7. Добавьте в каждую лунку по 50 мкл стоп-раствора (цвет должен измениться с синего на желтый).

8. Установите длину волны ридера микропланшетов на 450 нм, чтобы определить значение ОП (рекомендуется считать значение ОП на двойной длине волны 450/630 нм в течение 5 минут).

7. Результат оценки

Количественное определение

Среднее значения абсорбции эквивалентны проценту среднего значения ОП (В) образца или стандартного раствора, деленному на значение ОП (В₀) первого стандартного раствора (нулевой стандарт) и умноженному на 100%:

$$\frac{B}{B_0} \times 100\% = \% \text{ значения абсорбции}$$

В — среднее (по двум лункам) значение ОП образца или стандартного раствора.

В₀ — среднее значение ОП стандартного раствора с концентрацией 0 нг/мл.

Начертите стандартную кривую с процентами значений абсорбции стандартных растворов и полулогарифмическими значениями стандартных растворов амоксициллина (нг/мл) по осям Y и X соответственно. Считайте соответствующую концентрацию образца со стандартной кривой. Полученное значение затем умножают на соответствующий коэффициент разбавления, чтобы получить окончательную концентрацию амоксициллина в образце.

8. Меры предосторожности

1) Внимательно прочтите инструкцию перед проведением анализом.

2) Доведите все компоненты до комнатной температуры (20–25 °С) перед использованием (достаньте набор из холодильника и подержите при комнатной температуре около 1 часа).

3) Аккуратно встряхните флакон, чтобы реагент равномерно перемешался перед использованием реагента, избегайте образования пузырьков при смешивании реагента.

4) Наконечники дозаторов одноразовые, не используйте их повторно, чтобы избежать перекрестного загрязнения.

5) Не используйте тест-набор с истекшим сроком годности, не используйте в анализе реагенты из разных партий.

6) Анализируйте образец сразу после завершения подготовки.

7) Субстрат А и Субстрат Б - бесцветные жидкости, если они становятся синими перед использованием или становятся синими сразу после смешивания, это свидетельствует о загрязнении или порче растворов.

8) В составе стоп-раствора есть серная кислота, при попадании на кожу или одежду немедленно смойте реагент водой. Если реагент попадет в глаза, промойте их и отправляйтесь в больницу.

9. Хранение и срок годности

Хранение: хранить при 2-8°C, не замораживать

Срок годности: 12 месяцев, дата производства указана на упаковке.