



RIDASCREEN® Хинолон/хинолоны

Арт. No. R3113

Иммуноферментный метод для количественного
определения хинолонов

Анализ *in vitro*

Хранить при 2-8°C

Пожалуйста, обращайтесь по вопросам технической поддержки и дополнительной информации к официальным дистрибьюторам на территории Вашей страны:

**Официальный дистрибьютор
в России:**

ООО "НеоТест"

ул. Растопчина, 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



**Официальный дистрибьютор
в Беларуси:**

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



RIDA® и RIDASCREEN®

являются зарегистрированными торговыми марками R-Biopharm AG.

Производитель: R-Biopharm AG, Дармштадт, Германия

R-Biopharm AG имеет сертификат ISO 9001.

RIDA® and RIDASCREEN®

are registered trademarks of R-Biopharm AG

Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

RIDASCREEN® Хинолон/хинолоны

Описание

RIDASCREEN®Chinolone/Quinolones (Артикул №.: R3113) – набор для количественного определения хинолонов в молоке, яйцах, мясе, рыбе и креветках методом конкурентного иммуноферментного анализа.

Все необходимые для иммуноферментного анализа реагенты, включая стандарты, входят в комплектацию тест-системы.

Набор предназначен для 96 определений (включая стандарты).



Для количественного определения требуется микропланшетный ИФА-анализатор (ридер).

Пробоподготовка:	Молоко: центрифугирование. Яйца, креветки: гомогенизация, экстракция, центрифугирование. Мясо, рыба: гомогенизация, экстракция, центрифугирование, разведение.
Время выполнения:	Подготовка проб (10 проб).....ок. 30 мин Выполнение теста (время инкубации).....1,5 ч
Предел обнаружения: (соответствует стандартному веществу)	Молоко.....0,5 мкг/кг (ppb) Креветки.....6 мкг/кг (ppb) Рыба.....8 мкг/кг (ppb) Яйца.....9 мкг/кг (ppb) Мясо.....10 мкг/кг(ppb)
Степень извлечения (соответствует стандартному веществу):	80-100% Дополнительная информация содержится в отчете о проверке.
Специфичность:	Ципрофлоксацин (стандартное вещество).....100 % Норфлоксацин, Энрофлоксацин, Марбофлоксацин, Данофлоксацин, Дифлоксацин, Фумекин, Офлоксацин.....100 % Сарафлоксацин43 % Оксолиновая кислота24 %

Специфичность теста RIDASCREEN Chinolone/Quinolones была установлена при определении перекрёстного реагирования с соответствующими веществами в буферной системе. В реальных образцах специфичность может отличаться от определённой на буферной системе из-за матричного эффекта. Перед проведением анализа на перекрёстно реагирующие вещества, пользователь должен определить предел выявления (Limit of Detection) и предел разрешения (Recovery) для этих веществ в

соответственных матриксах. Данный тест не может дифференцировать аналиты и перекрёстно реагирующие вещества.

Для повышения качества оценки при выполнении процедур ИФА мы дополнительно ссылаемся на наше Руководство по надлежащей практике ИФА (GEP) в соответствующей версии. В них перечислены минимальные стандарты, касающиеся базовых условий при использовании тест-наборов R-Biopharm AG и проведении ИФА-анализа. Руководство можно найти, распечатать и загрузить с веб-сайта официального дистрибьютора:

ООО «Неотест», РФ	https://neo-test.ru/wp-content/uploads/2021/10/prakticheskoe-rukovodstvo-ifa-rus.pdf	
ОДО «КомПродСервис», РБ	https://komprod.com/wp-content/uploads/2021/10/prakticheskoe-rukovodstvo-ifa-rus.pdf	

Сопутствующие товары

RIDA® Ciprofloxacin Spiking Solution (R3198)

1. Применение

Тест RIDASCREEN®Chinolone/Quinolones – конкурентный иммуноферментный анализ для количественного определения хинолонов в молоке, яйцах, телятине, свинине, баранине, курятине, индюшином мясе, рыбе и креветках.

2. Общая информация

Ингибиторы гираз подразделяются на четыре субгруппы. Большинство хинолонов относятся к подгруппе фторхинолонов, у которых есть фтор-группа, присоединённая к центральному системному кольцу, обычно в 6-ом положении. Фторхинолоны относят к так называемому второму поколению хинолонов. Некоторые из них прописывают, как антибиотики, в ветеринарной медицине для сельскохозяйственных животных. Фторхинолоны – это антибиотики широкого спектра действия против многих видов бактерий. Широкое применение фторхинолонов у сельскохозяйственных животных вызвало развитие микробной резистентности.

3. Принцип метода

В основе теста – взаимодействие антигенов с антителами. Лунки стрипов микротитровального планшета покрыты антителами захвата, направленными против анти-хинолоновых антител. В лунки вносятся стандарты или исследуемые пробы, а также ферментный конъюгат ципрофлоксацина и анти-

хинолоновые антитела. Свободный хинолон и ферментный конъюгат ципрофлоксацина конкурируют за места связывания хинолоновых антител (конкурентный иммуноферментный анализ). Одновременно анти-хинолоновые антитела связываются с фиксированными на поверхности лунок антителами захвата. Не связавшийся ферментный конъюгат затем удаляется в процессе промывки. В лунки вносится раствор субстрата/хромогена. Связавшийся ферментный конъюгат преобразует хромоген в вещество голубого цвета. Добавление стоп-раствора приводит к изменению цвета из голубого в желтый. Измерение проводится фотометрически при 450 нм. Оптическая плотность раствора в лунках обратно пропорциональна концентрации хинолона в образце.

4. Предоставляемые реагенты

В каждом наборе содержится достаточное количество материалов для 96 определений (включая стандартные растворы)

Компонент	Цвет крышки	Формат	Объём
Микротитрационный планшет	-	Готов к использованию	96 лунок
Стандарт 1	Белый	Готов к использованию	0 мкг/л 1,3 мл
Стандарт 2	Белый	Готов к использованию	0,5 мкг/л 1,3 мл
Стандарт 3	Белый	Готов к использованию	1,5 мкг/л 1,3 мл
Стандарт 4	Белый	Готов к использованию	3 мкг/л 1,3 мл
Стандарт 5	Белый	Готов к использованию	6 мкг/л 1,3 мл
Стандарт 6	Белый	Готов к использованию	18 мкг/л 1,3 мл
Соль для промывочного буфера Tween		Соль для растворения	
Конъюгат	Красный	Готов к использованию	6 мл
Антитела	Чёрный	Готов к использованию	6 мл
Субстрат/Хромоген Red Chromogen Pro	Коричневый	Готов к использованию	10 мл
Стоп-реагент	Жёлтый	Готов к использованию	14 мл

5. Необходимые, но не предоставленные материалы

5.1. Оборудование:

- ИФА-анализатор (ридер), оснащенный фильтром на 450 нм.
- Центрифуга.
- Лабораторный вертикальный шейкер или вортекс.
- Градуированные пипетки.
- Микропипетки на 20 – 200 мкл и 200 – 1000 мкл.

5.2. Реагенты:

- Метанол.
- н-Гексан.
- 20 мМ PBS буфер, pH 7,2: 0,55 г $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ + 2,85 г $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ + 9 г NaCl в 1000 мл дист. воды.
- Буфер для экстрагирования из креветок: разведение метанола в воде (70:30, v/v) 1:2 (1+1) с промывочным буфером (см. пункт 10.1.).
- Экстракционный буфер для меда
2,0 г (= 50 мМ) гептансульфоновой кислоты (натриевая соль) + 1,9 г (= 25 мМ) трисодиумфосфат ($\text{Na}_3\text{PO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$), долейте до 200 мл дистиллированной водой, отрегулировать pH с помощью о-фосфорной кислоты до pH 2,0.

6. Меры предосторожности для пользователей

Тестирование должно выполняться только обученным лабораторным персоналом. Следует строго соблюдать инструкцию по работе с набором.

В данном наборе могут содержаться опасные вещества. Дополнительные рекомендации по работе с содержащимися опасными веществами можно найти в соответствующих паспортах безопасности для данной продукции, (MSDS), которые доступны он-лайн на сайте www.r-biopharm.com.

7. Инструкции по хранению

Храните комплект при температуре 2-8 °С. Не замораживайте набор и его компоненты.

Неиспользованные микролунки поместите в оригинальную упаковку из фольги и плотно закройте её вместе с прилагаемым осушителем. Храните при температуре 2 – 8 °С.

Раствор субстрата/хромогена светочувствителен, поэтому избегайте попадания на него прямого света.

Не используйте тест-систему с истекшим сроком годности, указанным на этикетке комплекта, так как гарантия качества в этом случае аннулируется.

Не заменяйте реагенты в составе одного комплекта реагентами из другого комплекта с другим номером лота.

8. Признаки непригодности реагентов

- Окрашивание красноватого раствора субстрата/хромогена в голубой цвет ещё до проведения тестирования
- Значение оптической плотности в лунке с нулевым стандартом ниже 0,6 ($A_{450 \text{ нм}} < 0,6$)

9. Подготовка образцов

Рабочие устройства, такие как мельница, стеклянные флаконы или шпатели, должны быть очищены до начала работы. Пробы должны храниться в прохладном месте.

9.1. Молоко

- центрифугируйте: 15 мин/1000g/4°C;
- удалите жировой слой, отберите аликвоту водной фазы в чистую пробирку для тестирования используется 50 мкл образца на лунку.

9.2. Яйца

- гомогенизируйте образец;
- отберите 1 г гомогенизированного образца и добавьте 9 мл раствора метанола в воде (35:65, v/v);
- интенсивно перемешивайте в течение 10 минут (вверх-вниз на вертикальном шейкере или вортексе);
- центрифугируйте: 10 мин/4000 g/при комнатной температуре (20-25°C);
- для тестирования используется 50 мкл на супернатанта на лунку.

9.3 Мясо (телятина, свинина, баранина, курица, индюшати́на) и рыба

- гомогенизируйте образец;
- отберите 1 г гомогенизированного образца и добавьте 4 мл раствора метанола в воде (70:30, v/v);
- интенсивно перемешивайте в течение 10 минут (вверх-вниз на вертикальном шейкере или вортексе);
- центрифугируйте: 10 мин / 4000 g /при комнатной температуре (20-25 °C);
- разбавьте супернатант 1:2 (1+1) промывочным буфером (см. пункт 10.1)
- для тестирования используется 50 мкл на супернатанта на лунку.

9.4. Креветки

- гомогенизируйте образец;
- отберите 1 г гомогенизированного образца и добавьте 4 мл буфера для экстрагирования хинолонов из креветок, (см. пункт 5.2);
- интенсивно перемешивайте в течение 10 минут (вверх-вниз на вертикальном шейкере или вортексе);
- центрифугируйте: 10 мин/4000 g при комнатной температуре (20-25 °C);

- для тестирования используется 50 μ л на супернатанта на лунку.

9.5. Мед

- к 4,5 г гомогенизированного образца в центрифужном флаконе с завинчивающейся крышкой и добавьте 25,5 мл экстракционного буфера (pH 2,0), перемешивайте в течение 10 мин (на вортексе);
 - центрифугируйте: 5 мин / 1000 g / комнатная температура (20 – 25 °C);
 - перенесите 15 мл супернатанта в новую центрифужную пробирку и добавьте 8 мл н-гексана;
 - перемешивайте в течение 5 мин (встряхиванием вверх-вниз);
 - центрифугируйте: 3 мин / 1000 g / комнатная температура (20 - 25 °C);
 - перенесите 10 мл нижнего слоя в новую пробирку / центрифужный флакон.

Если после пункта 5 появляются образцы мутные, то центрифугируйте их в течение 3 мин при 1000 g и комнатной температуре (20 - 25 °C). Используйте только прозрачный раствор. Нанесите раствор на колонку RIDA® C18 (арт. R2002) следующим образом (скорость потока: примерно 1 капля/сек):

- промойте колонку 2 мл метанола;
- уравновесьте колонку 2 мл дист. воды;
- нанести образец (около 10 мл);
- промойте колонку 3 мл метанола / воды (20:80, v/v);
- высушите колонку, пропустив через нее воздух или N₂;
- медленно элюируйте образец с помощью 0,5 мл метанола в новую пробирку и удалите остатки жидкости из колонки в пробирку;
- добавьте 1 мл 20 мМ PBS буфера к 0,5 мл элюата;
- использовать 50 мкл на лунку в анализе.

Примечание:

Если требуется дальнейшее разведение, образец должен быть разведен в метаноле / PBS буфере (35:65, v/v).

10. Проведение теста

10.1. Предварительные указания

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

Фосфатно-солевой буфер с твином (PBS-Tween), входящий в состав набора применяется в качестве моющего буфера (см.4). Растворите содержимое прилагаемого пакетика буферной соли в 1 л дистиллированной воды. Готовый моющий буфер может храниться при температуре 2 - 8 °C в течение 4 - 6 недель.

Как альтернатива: растворите содержимое пакетика в 100 мл дистиллированной воды для получения 10-кратного концентрата. 10-кратный

концентрат может храниться около 8 - 12 недель при комнатной температуре (20 - 25 °C). Для приготовления готового к работе раствора, разведите одну часть 10-кратного концентрата в 9 частях дистиллированной воды.

10.2. Процедура тестирования

Внимательно следуйте рекомендуемой процедуре промывки. В процессе выполнения анализа не допускайте высыхания микролунок.

1. Вставьте в рамку планшета необходимое количество микролунок, достаточное для тестирования всех стандартов и исследуемых образцов в двух повторностях. Запишите схему расположения на планшете лунок со стандартами и исследуемыми образцами.

2. Внесите по 50 мкл стандартов или подготовленных исследуемых образцов в соответствующие лунки для проведения анализа в двух повторностях. Для каждого стандарта или исследуемого образца используйте новые наконечники.

3. Добавьте по 50 мкл ферментного конъюгата (красная крышка) на дно каждой лунки.

4. Добавьте по 50 мкл раствора антител (чёрная крышка) в каждую лунку. Перемешайте, осторожно вращая планшет рукой, и оставьте на инкубацию в холодильнике (2 - 8 °C) в течение 1 часа.

5. Удалите жидкость из лунок, переверните рамку планшета и тщательно стряхните капельки жидкости, оставшиеся в лунках, путем троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому фильтровальной бумагой. Заполните все лунки 250 мкл моющего буфера (см. п. 10,1) и снова удалите жидкость. Повторите процедуру промывки лунок еще два раза.



6. Внесите по 100 мкл раствора субстрата / хромогена (коричневая крышка) во все лунки. Перемешайте, осторожно вращая планшет рукой, и оставьте на инкубацию при комнатной температуре (20 - 25 °C) в течение 15 минут в темноте.

7. Добавьте в каждую лунку по 100 мкл стоп-раствора (жёлтая крышка) и перемешайте, осторожно вращая планшет рукой. Измерьте оптическую плотность при 450 нм относительно воздуха в течение 30 минут после добавления стоп-раствора.

11. Результаты

Для обработки результатов анализа иммуноферментным методом, компанией R- Biopharm было разработано специальное программное обеспечение для тестов RIDASCREEN®: программа RIDA®SOFT Win (Кат. No. Z9999FF).

Пример стандартной кривой дан в сертификате качества на тест-систему. Программное обеспечение RIDA® SOFT Win и инструкцию к нему Вы можете бесплатно скачать на сайте официальных дистрибьюторов:

ООО «Неотест», Россия	https://neo-test.ru/programmnoe-obespechenie/	
ОДО «КомПродСервис», Беларусь	https://komprod.com/programmnoe-obespechenie/	

Пример стандартной кривой дан в сертификате обеспечения качества на тест-систему.

Инструкция по обработке результатов анализа без использования программного обеспечения:

$$\frac{\text{Оптическая плотность стандарта/пробы}}{\text{Оптическая плотность нулевого стандарта}} \times 100 = \% \text{ оптической плотности}$$

Нулевой стандарт приравнивается, таким образом, к 100%, а величины оптической плотности указываются в процентах. По величинам относительной оптической плотности, вычисленным для стандартных растворов и соответствующим значениям концентрации хинолонов в мкг/кг строится калибровочная кривая в полулогарифмической системе координат.

12. Интерпретация

Для того чтобы вычислить концентрацию хинолонов в исследуемой исходной пробе в мкг/кг (ppt), величину концентрации хинолонов, полученную по калибровочной кривой, следует умножить на соответствующий фактор разбавления:

молоко – 1; креветки – 5; яйца – 10; мясо, рыба – 10; мед – 1.

13. Рекомендация

Для обеспечения высокой аналитической эффективности мы рекомендуем:

- анализировать каждый образец материала в двух экземплярах,

- использовать в качестве контрольных образцов образцы без хинолонов и содержащие хинолоны (искусственно контаминированные образцы),
- проводить эксперименты со спайками для обеспечения точной и правильной процедуры тестирования.

Данные соответствуют нашему нынешнему состоянию технологий и предоставляют информацию о наших продуктах и их использовании. R-Biopharm не дает никаких гарантий, явных или подразумеваемых, за исключением того, что материалы, из которых изготовлены ее продукты, имеют стандартное качество. Дефектные продукты будут заменены. Нет никаких гарантий товарной пригодности этого продукта или пригодности продукта для каких-либо целей. R-Биофарм не несет ответственности за любой ущерб, в том числе фактический или косвенный ущерб, или расходы, возникшие прямо или косвенно от использования этого продукта.