



RIDASCREEN® Бацитрацин

Арт. No. R2901

Иммуноферментный метод для количественного
определения бацитрацина

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® Бацитрацин

Описание

RIDASCREEN®Bacitracin (Артикул №.: R2901) представляет собой набор для количественного определения бацитрацина в молоке, мясе, яйцах, кормах и моче методом конкурентного иммуноферментного анализа. Все необходимые для иммуноферментного анализа реагенты, включая стандарты, входят в комплектацию тест-системы. Набор предназначен для 96 измерений (включая стандарты). Для количественного анализа требуется микропланшетный ИФА-анализатор (ридер).

Пробоподготовка:	молоко: доведение pH, обезжиривание, разведение; мясо, яйца, корма: гомогенизация, экстракция, центрифугирование, разбавление; моча: разбавление.
Время выполнения:	Подготовка проб (10 проб): Молоко.....ок. 30 мин Мясо.....ок. 45 мин Яйца.....ок. 45 мин Корма.....ок. 45 мин Моча.....ок. 15 мин Выполнение теста (время инкубации).....1,5 ч
Предел количественного обнаружения:	Молоко.....ок. 11 мкг/кг Мясо.....ок. 9 мкг/кг Яйца.....ок. 11 мкг/кг Корма.....ок. 82 мкг/кг Моча.....ок. 23 мкг/кг
Степень извлечения (спайкованные образцы):	Молоко.....ок. 99% Мясо.....ок. 122% Яйца.....ок. 110% Корма.....ок. 87% Моча.....ок. 84%
Специфичность:	Бацитрацин.....100% Вирджиниямицин.....<3% Тилозин.....<2% Спирамицин, колистин, неомицин.....<1%

Специфичность теста RIDASCREEN®Bacitracin была установлена посредством определения кросс-реактивности к соответствующим веществам в буферной системе. Специфичность в образцах может отличаться от специфичности, определяемой в буферных системах, за счёт матричного эффекта. Перед тем, как начать тестирование перекрёстно-реагирующих

веществ, пользователь должен определить предел обнаружения (Limit of Detection) и полноту извлечения (Recovery) для данных веществ в определённых типах образца. Данный тест не должен использоваться для установления различия между перекрёстно реагирующими веществами.

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	

1. Применение

RIDASCREEN®Bacitracin (Артикул №.: R2901) представляет собой набор для количественного определения бацитрацина в молоке, мясе, яйцах, кормах и моче методом конкурентного иммуноферментного анализа.

2. Общая информация

Бацитрацин относится к группе полипептидных антибиотиков. Бацитрацин представляет собой смесь различных полипептидов, где бацитрацин А в качестве основного компонента обладает самой высокой биологической активностью. Благодаря ингибированию синтеза клеточной стенки бацитрацин обладает широким спектром бактерицидного действия против грамположительных и грамотрицательных бактерий. В дополнение к ветеринарному применению бацитрацин может быть использован в качестве антимикробного стимулятора роста в животноводстве. Таким образом, остатки бацитрацина могут оставаться в пищевых продуктах животного происхождения и представлять опасность для здоровья потребителей. Неправильное использование антибиотиков также способствует формированию устойчивых к антибиотикам бактерий, которые создают все большую проблему для здоровья населения. Следовательно, бацитрацин был исключен в соответствии с правилом 2821/98 / ЕС из списка утвержденных кормовых добавок для животных (Директива 70/524 / ЕЕГ Приложение В), также были установлены максимальные пределы содержания бацитрацина в пищевых продуктах (Правило 37/2010 / ЕС).

3. Принцип метода

В основе теста лежит реакция антиген-антитело. Лунки стрипов микротитровального планшета покрыты антителами специфичными к бацитрацину. В лунки вносят стандарты или исследуемые растворы, а также ферментный конъюгат бацитрацина. Свободный бацитрацин, присутствующий в образце, и бацитрацин ферментного конъюгата конкурируют за связывание с антителами (конкурентный иммуноферментный анализ). Несвязавшийся 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 с голубого на желтый. Оптическая плотность раствора в лунках при 450 нм обратно пропорциональна концентрации стрептомицина в образце.

4. Предоставляемые реагенты

Каждая тест-система содержит достаточное количество материалов для 96 анализов (включая анализ стандартов):

Компонент	Цвет крышки	Формат	Объём	
Микротитрационный планшет	-	Готов к использованию		48 лунок
Буфер для образцов	Белый	Готов к использованию		40 мл
Стандарт 1	Белый	Готов к использованию	0 мкг/л	2 мл
Стандарт 2	Белый	Готов к использованию	0,625 мкг/л	1 мл
Стандарт 3	Белый	Готов к использованию	1,25 мкг/л	1 мл
Стандарт 4	Белый	Готов к использованию	2,5 мкг/л	1 мл
Стандарт 5	Белый	Готов к использованию	5 мкг/л	1 мл
Стандарт 6	Белый	Готов к использованию	10 мкг/л	1 мл
Стандарт 7	Белый	Готов к использованию	20 мкг/л	1 мл
Промывочный буфер	Белый	Концентрат	20x	30 мл
Конъюгат	Красный	Концентрат	100x	0,1 мл
Буфер для конъюгата	Зелёный	Готов к использованию		15 мл
Субстрат/Хромоген Red Chromogen Pro	Коричневый	Готов к использованию		12 мл
Стоп-реагент	Жёлтый	Готов к использованию		15 мл

5. Необходимые, но не предоставленные материалы

5.1. Оборудование:

Оборудование	Молоко	Мясо, яйца, корма	Моча
микроплащечный спектрофотометр (450 нм)	•	•	•
градуированные пипетки	•	•	•
микропипетки переменного объема 20 - 200 мкл и 200 - 1000 мкл	•	•	•
рН-метр	•		
Миксер		•	
Шейкер		•	
Вортекс	•		
Центрифуга	•	•	

5.2. Реагенты:

Реактивы	Молоко	Мясо, яйца, корма
0,1 М NaOH для регулирования pH	•	
80 % (v/v) метанол в буфере для образцов		•

6. Меры предосторожности для пользователей

Тестирование должно выполняться только хорошо подготовленным и обученным персоналом. Необходимо строго соблюдать требования инструкции.

В состав набора могут входить опасные вещества. Для ознакомления с мерами безопасности при работе с опасными веществами, пожалуйста, изучите соответствующие паспорта безопасности - material safety data sheets (MSDS), доступные в режиме online на сайте www.r-biopharm.com.

7. Инструкции по хранению

Набор должен храниться при 2 – 8 °C. Не замораживайте набор и его компоненты.

Неиспользованные микролунки необходимо поместить назад в оригинальную упаковку из фольги, плотно закрыть её и хранить лунки дальше с поставляемым десикантом при 2 - 8 °C.

Раствор субстрата/хромогена чувствителен к свету, поэтому следует избегать попадания на него прямого света.

Гарантия качества не сохраняется после окончания срока годности, указанного на этикетке.

Не следует заменять или комбинировать индивидуальные реагенты из наборов разных серий.

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

Образцы следует хранить в прохладном месте, защищёнными от попадания света.

9.1. Молоко

- довести pH до $7 \pm 0,5$ 0,1 M NaOH;
- центрифугировать: 5 мин/2000g/4°C (39,2 °F);
- удалить верхний слой жира;
- разбавить молоко 1:10 (1 + 9) буфером для образцов (например, 20 мкл молока + 180 мкл буфера для образцов), перемешать на вортексе;
- использовать 50 мкл на лунку для анализа.

9.2. Мясо, яйца, корма

- тщательно гомогенизировать образец;
- добавить 2 мл 80% метанола в буфере для образцов к 1 г гомогенизированного образца;
- встряхивать, переворачивая пробирку 15 мин;
- центрифугировать: 10 мин/2000 g/комнатная температура (20-25 °C/ 68-77 °F);
- мясо и яйца: разбавить супернатант 1: 5 (1 + 4) буфером для образцов, перемешать на вортексе (например, 40 мкл супернатанта + 160 мкл буфера для образцов);
- корм: разбавить супернатант 1:20 (1 + 19) буфером для образцов, перемешать на вортексе (например, 10 мкл супернатанта + 190 мкл буфера для образцов);
- использовать 50 мкл на лунку для анализа.

9.3. Моча

- разбавить мочу 1:25 (1 + 24) в буфере для образцов (например, 20 мкл мочи + 480 мкл буфера для образцов);
- использовать 50 мкл на лунку для анализа.

10. Проведение теста

10.1. Предварительные указания

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

Если в концентрированных растворах образовались осадки, то их необходимо растворить встряхиванием при комнатной температуре.

Разбавьте концентрат промывочного буфера 1:20 (1 + 19) деионизированной водой (например, 2 мл концентрата + 38 мл воды,

достаточной для 4 стрипов). Разбавленный промывочный буфер можно хранить при температуре 2–8 °С до истечения срока годности концентрата.

Конъюгат бацитрацина поставляется в виде концентрата. Поскольку разбавленный конъюгат обладает ограниченной стабильностью, следует восстанавливать только то количество, которое действительно необходимо. Перед разбавлением центрифугируйте концентрат конъюгата (1 мин /1000 g/ комнатная температура (20-25 °С). Для восстановления концентрат разбавляют 1: 100 (1 + 99) в буфер для конъюгата (например, 20 мкл концентрата конъюгата + 1980 мкл буфера для конъюгата, достаточно для 4 стрипов).

10.2. Ход работы

Воспроизводимость результатов существенно зависит от тщательности промывки лунок. В процессе выполнения анализа не допускайте высыхания микролунок.

1. Вставьте в рамку планшета микролуночки в количестве, достаточном для всех стандартов и исследуемых образцов для проведения анализа в двух повторностях. Запишите схему расположения лунок со стандартами и исследуемыми образцами на плашке.

2. Внесите по 50 мкл стандартов или исследуемых образцов в соответствующие лунки для проведения анализа в двух повторностях. Добавьте в каждую лунку по 50 мкл разбавленного конъюгата. Аккуратно перемешайте (вручную) и инкубируйте в течение 60 минут при комнатной температуре (20 – 25 °С) в темноте.

3. Удалите жидкость из лунок, переверните рамку планшета и тщательно выбейте капельки жидкости, оставшиеся в лунках, путем троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому фильтровальной бумагой. Промойте все лунки 300 мкл моющего буфера (см. п. 10.1). Повторите процедуру промывки лунок еще два раза.

4. Внесите по 100 мкл раствора субстрата/хромогена во все лунки. Перемешайте содержимое лунок, осторожно вращая планшет рукой. Инкубируйте планшет при комнатной температуре (20 – 25 °С) в течение 30 минут в темноте.

5. Добавьте в каждую лунку по 100 мкл стоп-раствора и перемешайте, осторожно вращая планшет рукой. Сразу после добавления стоп-реагента измерьте оптическую плотность при 450 нм.

11. Результаты

Для обработки результатов анализа компанией R-Biopharm было разработано специальное программное обеспечение для иммуноферментных тестов RIDASCREEN®: программа RIDA®SOFT Win.net, (Кат. № Z9996).

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 (ОП) указываются в процентах. По величинам относительной оптической плотности, вычисленным для стандартных растворов и соответствующим значениям концентрации бацитрацина в мкг/кг строится калибровочная кривая в полулогарифмической системе координат.

Для того чтобы вычислить концентрацию бацитрацина в мкг/кг (ppb) в исследуемой исходной пробе, величину концентрации полученную по калибровочной кривой, следует умножить на соответствующий фактор разведения. При работе в соответствии с протоколом пробоподготовки, факторы разведения для образцов будут следующие:

- молоко – 10;
- мясо, яйца – 15;
- корм – 40;
- моча – 25.

Представленные данные соответствуют нашему пониманию данной технологии и обеспечивают информацией о нашей продукции и о том, как её использовать. R-Biopharm AG гарантирует стандартное качество всех материалов, входящих в состав набора. В случае изначального дефекта каких-либо материалов R-Biopharm обеспечивает их замену. R-Biopharm AG не отвечает за любые повреждения, вытекающие из-за некорректной работы с набором, а также не покрывает расходы, связанные напрямую или косвенно с неправильным применением данного набора.

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.