



RIDASCREEN® Сульфаметазин

Арт. No. R3011

Иммуноферментный анализ для количественного определения сульфаметазина в различных матрицах

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® Сульфаметазин

Описание

Набор RIDASCREEN®Sulfamethazin (Кат. №R3011) представляет собой конкурентный ферментный иммуноанализ для количественного определения сульфаметазина в молоке, мясе, мёде, печени, почках, рыбе, креветках и яйцах. Все необходимые для иммуноферментного анализа реагенты, включая стандарты, входят в комплектацию тест-системы. Набор предназначен для 96 определений (включая стандарты). Для количественного тестирования требуется микропланшетный ИФА-анализатор (ридер).

Пробоподготовка: Молоко: прямое использование
Мясо: гомогенизация, центрифугирование
Мёд: экстракция, очистка с помощью колонки RIDA® C18, выпаривание, восстановление, осаждение
Печень, почки, рыба: гомогенизация, центрифугирование, осаждение
Креветки, яйца: гомогенизация, экстракция, выпаривание, восстановление

Время выполнения: Подготовка проб (10 проб):
В зависимости от матрицы.....от 5 мин до 2 ч
Выполнение теста (время инкубации).....45 мин

Предел обнаружения:
(соответствует стандартному веществу)
*список расширен на основе валидационного отчета R-biopharm

Молоко.....	ок. 4 мкг/л
Мясо (говядина, свинина).....	ок. 5 мкг/кг
Мясо (птица).....	ок. 10 мкг/кг
Мёд*.....	ок. 10 мкг/кг
Печень.....	ок.6 мкг/кг
Почки.....	ок. 10 мкг/кг
Рыба.....	ок. 7 мкг/кг
Креветки.....	ок. 15 мкг/кг
Яйца.....	ок. 16 мкг/кг

Предел измерения:



Молоко.....	ок. 10 мкг/л
Мясо (говядина. свинина).....	ок. 10 мкг/кг
Мясо (птица).....	ок. 15 мкг/кг
Мед.....	ок. 20 мкг/кг
Печень.....	ок. 15 мкг/кг
Почки.....	ок. 15 мкг/кг
Рыба.....	ок. 20 мкг/кг
Креветки.....	ок. 20 мкг/кг
Яйца.....	ок. 15 мкг/кг

Полнота извлечения (в пересчёте на стандартное вещество):	Молоко.....	ок. 110%
	Мясо (говядина. свинина).....	ок. 94%
	Мясо (птица).....	ок. 115%
	Мед.....	ок. 88%
	Печень.....	ок. 89%
	Почки.....	ок. 96%
	Рыба.....	ок. 88%
	Креветки.....	ок. 111%
	Яйца.....	ок. 107%

Специфичность:	Сульфаметазин (стандартное вещество).....	100 %
	Сульфаметазин.....	ок. 4 %
	Сульфацетамид,сульфахлоропиридазин,сульфахлоропиридазин-(фенил-13С6), сульфадиазин, сульфадиметоксин, сульфадоксин, сульфагуанидин, сульфаметоксазол, сульфаметоксипиридазин, сульфаметизол,сульфамоксол, сульфаниламид, сульфафеназол, сульфапиридин, сульфакиноксалин, сульфисоксазол.....	< 1%

Специфичность набора RIDASCREEN® Sulfamethazin определена при выявлении перекрёстной реактивности на соответствующие антибиотики в буферной системе. Специфичность, определённая на образцах, может отличаться от специфичности, выявленной на буферной системе. Это объясняется эффектом матрицы. Прежде, чем проверять перекрёстно реагирующие вещества, конечный пользователь должен определить предел детекции (Limit of Detection) и разрешающую способность (Recovery) для этих веществ в соответствующих образцах матриц. Данная тест-система не может выявлять различие между искомым анализом и 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	

Смежные продукты:

R3098 RIDA® Sulfamethazin Spiking Solution (обогащающий раствор)

R3004 RIDASCREEN® Sulfonamide.

R3099 RIDA® Sulfonamide-Sulfamethoxy-pyridazin spiking solution (обогащающий раствор).

1. Применение

Набор RIDASCREEN® Sulfamethazin представляет собой конкурентный ферментный иммуноанализ для количественного определения сульфаметазина в молоке, мясе, меде печени, почках, рыбе, креветках и яйцах.

2. Общая информация

Сульфонамиды широко используются как кормовые добавки при откорме телят и свиней. Сульфонамиды также часто применяются в ветеринарной практике для лечения кишечных инфекций, маститов, воспалений легких и других системных заболеваний. Таким образом, сульфонамидная контаминация часто выявляется в продуктах животного происхождения, таких как мясо или молоко. Присутствие канцерогенного сульфадимезина представляет опасность для состояния здоровья человека. Согласно законодательству ЕС, максимальное допустимое содержание - maximum residue limit (MRL) всех веществ группы сульфонамидов в мышечной массе, жире, печени, почках, а также в молоке, не должно превышать 100 мкг/кг (ppb).

3. Принцип метода

В основе теста – реакция взаимодействия антигенов с антителами. Лунки стрипов планшета покрыты антителами против антител к сульфаметазину. В лунки вносят стандарты или растворы исследуемых образцов, а также ферментный конъюгат сульфаметазина. Свободный сульфаметазин, присутствующий в образце, и сульфаметазин ферментного конъюгата конкурируют за связывание с антителами (конкурентный иммуноферментный анализ). Несвязавшийся ферментный конъюгат затем удаляется в процессе промывки. В лунки вносят раствор субстрат-хромогена. Ферментный конъюгат преобразует хромоген в конечный продукт голубого цвета. Добавление стоп-раствора приводит к изменению цвета с голубого на жёлтый. Измерение проводится фотометрически при 450 нм. Оптическая плотность раствора в лунках обратно пропорциональна концентрации сульфаметазина в образце.

4. Предоставляемые реагенты

Одной упаковки реагентов достаточно для выполнения 96 определений (включая анализ стандартов).

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	3 мкг/л 1,3 мл
Стандарт 3	Белый	Готов к использованию	9 мкг/л 1,3 мл
Стандарт 4	Белый	Готов к использованию	27 мкг/л 1,3 мл
Стандарт 5	Белый	Готов к использованию	81 мкг/л 1,3 мл
Стандарт 6	Белый	Готов к использованию	162 мкг/л 1,3 мл
Солевой промывочный буфер Твин		Соль для растворения	
Конъюгат	Красный	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:

Оборудование	Молоко	Мясо	Мед	Печень	Почки	Рыба	Креветки, яйца
микроплащечный спектрофотометр (450 нм)	•	•	•	•	•	•	•
градуированные пипетки		•	•	•	•	•	•
микропипетки переменного объема 5 мкл - 10 мкл			•		•	•	
микропипетки переменного объема 20 мкл - 200 мкл и 200 - 1000 мкл	•	•	•	•	•	•	•
Миксер		•		•	•	•	•
Шейкер		•		•	•	•	•
Центрифуга		•	•	•	•	•	•
Испаритель			•				•
Вортекс	•	•	•	•	•	•	•
RIDA® C-18 column колонки			•				

5.2. Реагенты:

Реагент	Молоко	Мясо	Мед	Печень	Почки	Рыба	Креветки, яйца
Буфер для экстракции			•				
Метанол			•				•
Каррез I			•	•	•	•	
Каррез II			•	•	•	•	

Экстрагирующий буфер для мёда: 50 мМ ацетата натрия, рН 5.

Растворить 4.1 г ацетата натрия (CH_3COONa) в 900 мл дистиллированной воды, довести рН до 5 с помощью HCl и дистиллированной водой дополнить объём до 1000 мл.

Осадитель 1 (Каррез I) – 1,52 г ферроцианида (II) калия $\times 3 \text{H}_2\text{O}$ – довести дистиллированной водой до 10 мл.

Осадитель 2 (Каррез II) – 2,99 г сульфата цинка $\times 7 \text{H}_2\text{O}$ – довести дистиллированной водой до 10 мл.

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. Красноватый раствор субстрата/хромогена чувствителен к свету, поэтому следует избегать попадания на него прямого света. Гарантия качества не сохраняется по окончании 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.

9.1. Молоко

- перемешайте на вортексе необходимое для гомогенизации количество исследуемого образца;
- для анализа необходимо 50 мкл на лунку.

9.2. Мясо

- с предоставленного образца мяса удалите весь жир и гомогенизируйте образец на ультратураксе или миксере;
- к 1 г гомогенизированного образца добавьте 2 мл промывочного буфера (см. пункт 10.1);
- перемешайте в течение 10 секунд на вортексе, после чего тщательно встряхивайте в течение 5 минут
- отцентрифугируйте: 10 мин / 4000 g / при комнатной температуре (20 - 25°C);
- если сверху появиться слой жира, удалите его полностью (можно – с помощью пастеровской пипетки);
- для тестирования используйте 50 μл супернатанта на одну лунку.

9.3 Мёд

- растворите 1 г мёда в 6 мл буфера для экстракции (см. пункт 5.2);
 - центрифугируйте: 10 мин / 3000 g / при комнатной температуре (20 – 25 °C);
- Очистите весь полученный экстракт образца на колонках RIDA® C-18 column (Кат. №. R2002):
- промойте колонку 2 мл метанола;
 - уравновесьте колонку 2 мл буфера для экстракции;
 - пропустите через колонку весь экстракт образца и промойте 8 мл буфера для экстракции;
 - для полного удаления остатков жидкости из колонки пропустите через неё поток азота или воздуха;
 - медленно элюируйте образец в 1 мл 100 % метанола (приблизительно 15 капель в минуту);
 - испарите элюат до полного высыхания в потоке воздуха или азота при 60 °C;
 - растворите сухой остаток в 1 мл буфера для промывки;
 - добавьте 10 μл Каррез I, перемешайте на вортексе;
 - добавьте 10 μл Каррез II, перемешайте на вортексе;
 - отцентрифугируйте: 10 мин / 4000 g / при комнатной температуре;
 - для тестирования используется 50 мкл раствора на лунку.

9.4. Печень

- с предоставленного образца печени удалите весь жир и гомогенизируйте образец на ультратураксе или миксере;
- к 1 г гомогенизированного образца добавьте 2 мл промывочного буфера (см. пункт 10.1);

- перемешайте в течение 10 секунд на вортексе, после чего тщательно встряхивайте вверх-вниз в течение 5 минут;
- отцентрифугируйте: 10 мин / 4000 g / при комнатной температуре (20 – 25°C);
- к 1 мл супернатанта добавьте 20 µл Каррез I, перемешайте на вортексе;
- добавьте 20 µл Каррез II, перемешайте на вортексе;
- отцентрифугируйте: 10 мин / 4000 g / при комнатной температуре (20 – 25 °C);
- для тестирования используют 50 µл супернатанта на одну лунку.

9.5. Почки

- с предоставленного образца почек удалите весь жир и гомогенизируйте образец на ультратураксе или миксере;
- к 1 г гомогенизированного образца добавьте 2 мл промывочного буфера (см. 10.1);
- перемешайте в течение 10 секунд на вортексе, после чего тщательно встряхивайте вверх-вниз в течение 5 минут;
- отцентрифугируйте: 10 мин / 4000 g / при комнатной температуре (20 – 25°C);
- к 1 мл супернатанта добавьте 10 µл Каррез I, перемешайте на вортексе;
- добавьте 10 µл Каррез II, перемешайте на вортексе;
- отцентрифугируйте: 10 мин / 4000 g при комнатной температуре (20 – 25 °C);
- для тестирования используют 50 µл супернатанта на одну лунку.

9.6. Рыба

- с предоставленного образца рыбы удалите жир и кожу и гомогенизируйте на ультратураксе или миксере;
- к 1 г гомогенизированного образца добавьте 2 мл промывочного буфера (см. 5.1);
- перемешайте в течение 10 секунд на вортексе, после чего тщательно встряхивайте вверх-вниз в течение 5 минут;
- отцентрифугируйте: 10 мин / 4000 g / комнатная температура (20 – 25°C);
- к 1 мл супернатанта добавьте 5 µл Каррез I, перемешайте на вортексе;
- добавьте 5 µл Каррез II, перемешайте на вортексе;
- отцентрифугируйте: 10 мин / 4000 g / при комнатной температуре (20 – 25 °C);
- для тестирования используют 50 µл супернатанта на одну лунку.

9.7. Креветки / яйца

- гомогенизируйте образец на ультратураксе или миксере;
- к 1 г гомогенизированного образца добавьте 2 мл промывочного буфера;
- перемешайте в течение 30 секунд на вортексе;
- отцентрифугируйте: 10 мин / 4000 g / при комнатной температуре (20 – 2 °C);
- перенесите 1 мл супернатанта в новую чистую пробирку и испарите до полного высыхания в слабом потоке воздуха или азота при 60 °C;
- растворите сухой остаток в 1 мл буфера для промывки (см. пункт 10.1.);
- для тестирования используется 50 мкл раствора на лунку.

10. Проведение теста

10.1. Предварительные указания

Перед началом работы 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 одном литре 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. Ход работы

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

1. Вставьте в рамку планшета микролунок 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.

3. Добавьте на дно каждой лунки по 50 мкл конъюгата. Аккуратно перемешайте (вручную) и инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (20 – 25 °C).

4. 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 250 мкл моющего буфера (см. п. 10.1). Повторите процедуру промывки лунок еще два раза.

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

6. Добавьте в каждую лунку по 100 мкл стоп-раствора и перемешайте, осторожно вращая планшет рукой. В течение 30 минут 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). 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 сульфаметазина в мкг/л строится калибровочная кривая в полулогарифмической системе координат.

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

- Молоко – 1
- Мясо - 3
- Мёд – 1
- Печень – 3
- Почки – 3
- Рыба – 3
- Креветки – 3
- Яйца – 3

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.