

RIDASCREEN® Стрептомицин

Арт. No. R3104

Иммуноферментный метод для количественного
определения стрептомицина 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® Стрептомицин

Описание

RIDASCREEN® Streptomycin (Артикул №.: R3104) представляет собой набор для количественного определения стрептомицина в молоке и сухом молоке, меде, мясе, печени, почках креветках и яблочном соке 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: разбавление; сухое молоко: восстановление, разведение; мед: экстракция, хроматографическая очистка на колонках RIDA®C18, выпаривание и восстановление; мясо, печень, почки, креветки: гомогенизация, экстракция, разбавление; яблочный сок: центрифугирование, разбавление.
------------------	---

Время выполнения:	Подготовка проб (10 проб): молоко.....ок. 5 мин сухое молоко.....ок. 30 мин мёд.....ок.1,5 ч печень, почки, креветки.....ок. 45 мин яблочный сок.....ок. 5 мин Проведение теста (время инкубации).....45 мин
-------------------	--

Предел обнаружения: (соответствует стандартному веществу)	молоко.....ок. 5 мкг/л сухое молоко (восстановленное).....ок. 3 мкг/кг мёд.....ок. 2 мкг/кг говядина, свинина.....ок. 22 мкг/кг птица.....ок. 28 мкг/кг печень.....ок. 23 мкг/кг почки.....ок. 18 мкг/кг креветки.....ок. 20 мкг/кг яблочный сок.....ок. 4 мкг/л
--	--

Степень извлечения: (соответствует стандартному веществу)	Молоко.....ок. 110% сухое молоко.....ок. 107% мёд.....ок. 87 % мясо (говядина, свинина).....ок. 89 % птица.....ок. 95 % печень.....ок. 90 % почки.....ок. 81 % креветки.....ок. 76 % яблочный сок.....ок. 93 %
--	--

Специфичность теста RIDASCREEN®Streptomycin 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.

Специфичность:	Стрептомицин.....100%
	Дигидрострептомицин.....ок. 69%
	Гентамицин, неомицин, спектиномицин, канамицин.....<1%

Смежные продукты

RIDA® Streptomycin Spiking Solution (R3199)

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

Набор RIDASCREEN® Streptomycin – предназначен для количественного определения стрептомицина в молоке, сухом молоке, меде, мясе, печени, почках, креветках и яблочном соке методом конкурентного иммуноферментного анализа.

2. Общая информация

В ветеринарной медицине по частоте применения в лечении маститов, стрептомицин уступает только бета-лактамам. Из-за несоблюдения предписанного режима применения, а также при нарушении правил использования, следовые количества стрептомицина могут выявляться в продуктах питания животного происхождения. В высоких концентрациях стрептомицин обладает ото- и нефротоксичным эффектом. Постоянное воздействие на человека низких концентраций стрептомицина, находящегося в пище, вызывает проявления аллергического характера, подавление микрофлоры кишечника, а так же повышает устойчивость патогенных микроорганизмов. Чтобы защитить потребителя от риска для здоровья и во избежание проблем, вызванных технологией приготовления пищи, необходима чувствительная и простая методика определения стрептомицина. Согласно законодательству Евросоюза, уровень стрептомицина в мясе и печени установлен в MRL (maximum residue limits) и не должен превышать в мышцах и печени 500 мкг/кг (ppb), в почках – 1000 мкг/кг (ppb) и в молоке – 200 мкг/кг (ppb). В странах ЕС установлена нулевая толерантность для стрептомицина меде, с минимальным пределом обнаружения $ss\beta = 40$ мкг/кг для тестовых систем.

3. Принцип метода

В основе теста лежит реакция антиген-антитело. Лунки стрипов микротитровального планшета покрыты антителами, связанными с анти-стрептомициновыми антителами. В лунки вносят стандарты или исследуемые растворы, а также ферментный конъюгат стрептомицина. Свободный стрептамицин, присутствующий в образце, и стрептомицин ферментного конъюгата конкурируют за места связывания антител к стрептомицину (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

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

Компонент	Цвет крышки	Формат	Объём	
Микротитрационный планшет	-	Готов к использованию		96 лунок
Буфер для образцов	Белый	Готов к использованию		50 мл
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	4,5 мкг/л	1,3 мл
Стандарт 5	Белый	Готов к использованию	13,5 мкг/л	1,3 мл
Стандарт 6	Белый	Готов к использованию	40,5 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 (сухое)	Мёд	Мясо, печень, почки, креветки	Яблочный сок
Фотометр для микротитрационных планшетов (450 нм)	•	•	•	•
Градуированные пипетки	•	•	•	•
Микропипетки переменного объема 20 - 200 мкл и 200 - 1000 мкл	•	•	•	•
Вортекс	•	•	•	•
Центрифуга		•	•	
Шейкер		•	•	
Миксер (гомогенизатор)			•	
Испаритель		•		

5.2. Реагенты:

Реагенты	Мёд
Буфер для экстракции	•
PBS-буфер	•
100 % (v/v) метанол	•
RIDA® C18 колонка (Art. No. R2002)	•

Буфер для экстракции: 50 мМ гептансульфоновой кислоты с 25 мМ тринатрийфосфатом, pH 2,0: 2,0 г гептан-сульфоновой кислоты (натриевая соль) + 1,9 г тринатрийфосфата ($\text{Na}_3\text{PO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$); заполнять до 200 мл дистиллированной водой, регулировать с помощью о-фосфорной кислоты до pH 2,0.

PBS-буфер: 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; заполнять до 1000 мл с дистиллированной водой.

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 (сырое, свежее, пастеризованное, цельное, обезжиренное) и (обезжиренное) сухое молоко

- восстановить сухое молоко в соответствии с инструкциями производителя;
- разбавить молоко 1:10 (1 + 9) буфером для образцов (например, 50 мкл молока + 450 мкл буфера для образцов);
- использовать 50 мкл на лунку для анализа.

9.2. Мед

- за 1 час до начала работы необходимо подготовить смесь метанол/дистиллированная вода для насыщения колонок RIDA C18 (см. 5.2). Образовавшиеся воздушные пузырьки должны быть удалены с помощью вортекса непосредственно перед использованием;

- взвесьте 1 г меда в пробирку, доведите объем до 10 мл экстрагирующим буфером (см. п. 5.2);
- встряхивайте 10 мин до полного растворения меда;
- центрифугируйте раствор для его осветления: около 10 мин / 3000g / комнатная температура (20 – 25°C).

Полученный экстракт очищается в хроматографической колонке RIDA C18 (скорость потока 1 капля в секунду):

- для насыщения колонки, промойте RIDA C18 колонку 2 мл метанола (100%) и после этого 2 мл дистиллированной воды;
- после насыщения, пропустите через колонку 5 мл подготовленного экстракта исследуемой пробы со скоростью 15 капель в минуту;
- промойте колонку 3 мл дистиллированной воды;
- удалите из колонки остатки жидкости и просушите колонку в потоке воздуха или азота 2 мин;
- элюируйте пробу в 1 мл метанола (100%) осторожно, со скоростью 15 капель в минуту;
- испарите элюат досуха при 60°C в слабом потоке воздуха или азота;
- растворите сухой остаток в 2 мл фосфатного буфера (см. 5.2);
- для тестирования используется 50 мкл полученной смеси на лунку.

9.3. Мясо (говядина, свинина, птица), печень, почки (свиные и бычьи) и креветки

- полностью гомогенизировать образец (использовать измельчитель, миксер);

- 5 г гомогенизированного мяса смешайте с 20 мл промывочного буфера и перемешайте на вортексе в течение 10 с;
- встряхивайте в течение 30 мин;
- центрифугируйте: 10 мин / 4000 g / комнатная температура (20 – 25°C);
- разбавьте аликвоту супернатанта промывочным буфером в соотношении 1:10 (1+9) (например, 50 мкл пробы + 450 мкл буфера);
- для тестирования используется 50 мкл полученной смеси на лунку.

9.4 Яблочный сок

- разбавить яблочный сок или супернатант из полученного яблочного сока неконцентрированного 1:10 (1 + 9) буфером для образцов (например, 50 мкл яблочного сока + 450 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).

В качестве моющего буфера необходим фосфатно-солевой буфер с твином (PBS). Используйте соль для буфера, которая входит в комплектацию набора (см. п.4). Растворите содержимое прилагаемого пакетика буферной соли в 1л дистиллированной воды. Готовый моющий буфер может храниться при температуре 2 - 8 C° в течение 4 - 6 недель.

Альтернативный способ приготовления раствора: 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 в каждую лунку 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 15 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. № Z9999). Пример стандартной кривой дан в сертификате обеспечения 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/	

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 стрептомицина в мкг/л строится калибровочная кривая в полулогарифмической системе координат.

Для того чтобы вычислить концентрацию стрептомицина 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;

сухое молоко (восстановленное) – 10;

мёд – 4;

мясо, печень, почки, креветки – 50;

яблочный сок – 10.

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.