SNAPSHOOT
ENGINEERED FOR A SAFER TOMORROW

현장을 이해하고, 필요한 솔루션을 연결합니다.

산업안전 · 추락방지 시스템
산업용 소재 · 건축자재
제품 제안부터 공급·시공·설치·교육까지



COMPANY INFORMATION

스냅슛 (SNAPSHOOT)

ADDRESS (15431) 경기도 안산시 단원구 풍전로 37-9 트리플렉스 301동 118호
TEL 0507-1374-9229
FAX 0504-481-6749
E-MAIL bkkim@snapshoot.co.kr

TECHNICAL DOCUMENTS

인증서 · 데이터시트 · 기술자료

제품의 규격과 성능, 인증 및 적용 조건을 확인하기 위한 자료입니다.

ABOUT SNAPSHOOT

제품 공급을 넘어, 현장에 맞는 해결책으로

스냅슛은 산업현장의 작업 환경과 요구 조건을 바탕으로
적합한 제품과 시스템을 제안합니다. 현장 실사를 통해 설치 조건을 확인하고,
공급부터 시공·설치 및 사용 교육까지 필요한 과정을 함께합니다.

추락방지 시스템

안전대부착설비 · 수평·수직 라이프라인
레일 시스템 · 리지드 포스트

밀폐공간 진입·구조 솔루션

데빗암 · 삼각대 · 구조용 윈치
윈치 안전블록 · 구조장비

산업안전 보호구

전신형 안전대 · 랜야드 · 안전블록
작업 환경에 맞춘 개인보호구

산업용 소재·건축자재

산업용 테이프 · 접착제 · 기능성 소재
구조용 스크류 · 목조건축 자재

SNAPSHOOT
ENGINEERED FOR A SAFER TOMORROW

홈페이지 바로가기 →
문서 라이브러리 바로가기 →
시공사례 바로가기 →
문의하기 →

본 페이지는 스냅슛의 자료 제공 안내용 표지입니다. 첨부된 인증서 및 기술자료의 발행 주체, 인증 대상과 적용 범위는 해당 원문을 기준으로 확인해 주세요.

NEOGEN®

Product Instructions
E96MOL

- (EN) Mollusk Protein ELISA Kit
- (FR) Kit ELISA Protéine Mollusque
- (DE) Mollusken Protein ELISA Kit
- (IT) Kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mollusco
- (ES) Kit ELISA para Proteína de Moluscos
- (NL) Schelpdieren Proteïne ELISA test
- (SV) Mollusk Protein ELISA Kit
- (DA) Mollusk Protein ELISA Kit
- (NO) Molluskprotein ELISA Kit
- (PT) Kit ELISA para Proteína de Molusco
- (EL) Mollusk Protein ELISA Kit
- (PL) Zestaw ELISA do wykrywania białek obecnych w mięczakach
- (RU) ELISA набор (протеин моллюска)
- (TR) Yumuşakçalar Proteini ELISA Kiti
- (JA) 軟体類プロテインELISAキット
- (ZH) 贝类蛋白 ELISA 检测试剂盒
- (TH) ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากมอลลัซค์
- (KO) 연체동물류 단백질 ELISA 키트
- (ID) ELISA Kit Protein Moluska
- (AR) طقم اليزا بروتين القوقع

NEOGEN

Product Instructions

Mollusk Protein ELISA Kit

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for quantitative analysis of mollusk proteins.

Product Description and Intended Use

The Neogen® Mollusk Protein ELISA Kit is intended for the detection of mollusk proteins in clean-in-place water (CIP) final rinse water, environmental swab samples, food ingredients, and processed food products.

The Neogen Mollusk Protein ELISA Kit utilizes a sandwich ELISA. The mollusk proteins present in the sample react with the anti-mollusk antibody, which have been adsorbed to the surface of polystyrene microtiter wells. After the removal of unbound proteins by washing, anti-mollusk antibodies conjugated with horseradish peroxidase (HRP) are added. These enzyme-labeled antibodies form complexes with the previously bound mollusk protein. Following a second washing step, the enzyme bound to the immunosorbent is detected by the addition of a chromogenic substrate, 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB). The color development from this enzymatic reaction varies directly with the concentration of mollusk protein in the sample tested; thus, the absorbance, at 450 nm, is a measure of the concentration of mollusk protein in the test sample. The quantity of mollusk protein in the test sample can be extrapolated from the standard curve, constructed from standards of known concentration, and adjusted to consider the sample dilution.

The Neogen Mollusk Protein ELISA Kit is intended for use in a laboratory environment by professionals trained in laboratory techniques. Neogen has not documented the use of this product in industries other than food or beverage. For example, Neogen has not documented this product for testing pharmaceutical, cosmetic, clinical or veterinary samples. The Neogen Mollusk Protein ELISA Kit has not been evaluated with all possible food products, food processes and testing protocols.

The Neogen Mollusk Protein ELISA Kit contains 96 wells, described in Table 1.

Table 1. Kit components

Item	Identification	Preparation (see Reagent Preparation section for details)	Storage	Stability
Neogen® Mollusk Protein ELISA Wells	One foil bag with a plate of 96 removable antibody coated wells.	Ready to use.	2-8°C in sealed foil bag with desiccant.	Re-seal foil bag containing unused wells and desiccant. Store at 2-8°C to maintain stability until the expiration date of the kit.
Neogen® Mollusk HRP Conjugate (10X)	One vial with 1.5 mL of 10X Horseradish Peroxidase (HRP) Conjugated antibody (10X).	Dilute 1/10 immediately prior to use to make a 1X working solution.	2-8°C in the dark.	The 10X conjugate is stable until the expiration date of the kit.
Neogen® Mollusk Protein Standard Concentrate	One vial with a known concentration of mollusk protein.	Refer to the ELISA Procedure Section for standard preparation.	2-8°C. Do not freeze.	Neogen Mollusk Protein Standard Concentrate is stable until the expiration date of the kit.
Neogen® Diluent (5X)	One bottle with 50 mL of 5X Diluent.	Dilute 1/5 immediately prior to use to make a 1X working solution.	2-8°C	The 5X Neogen Diluent Solution is stable until the expiration date of the kit.

Neogen® Wash Solution (20X)	One bottle with 50 mL of 20X wash solution.	Dilute 1/20 to make a 1X working solution.	2-8°C for both 1X working solution and 20X Wash Solution concentrate.	The 20X Neogen Wash Solution is stable until the expiration date of the kit. The 1X Wash Solution is stable for at least one week after preparation.
Neogen® Extraction Buffer E26 (4X)	One bottle with 120 mL of 4X extraction buffer.	Dilute 1/4 to make a 1X working solution. The working solution should be heated to 50-60°C before use.	2-8°C for both 1X working solution and 4X Neogen Extraction Buffer concentrate.	The 1X Extraction Buffer and 4X Neogen Extraction Buffer are stable until the expiration date of the kit.
Neogen® Chromogenic Substrate Solution	One bottle with 12 mL of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB).	Ready to use.	2-8°C in the dark.	Protect from light. The Neogen Chromogenic Substrate Solution is stable until the expiration date of the kit.
Neogen® Stop Solution	One bottle of 12 mL of 0.3 M sulfuric acid.	Ready to use.	2-8°C	The Neogen Stop Solution is stable until the expiration date of the kit.

Materials not provided in the kit:

- Precision pipettes and pipette tips to collect 10 to 100 µL
- Test tubes
- Microtiter plate washer/aspirator
- Distilled or deionized water
- Microtiter plate reader
- Assorted labware for the preparation of reagents and buffer solutions
- Timer
- Vortex
- Shaking water bath or shaking incubator
- Orbital shaker

Safety

The user should read, understand, and follow all safety information in the instructions for the Neogen Mollusk Protein ELISA Kit. Retain the safety instructions for future reference.

⚠ **WARNING:** Indicates a hazardous situation, which, if not avoided, could result in death or serious injury and/or property damage.

NOTICE: Indicates a potentially hazardous situation, which, if not avoided, could result in property damage.

⚠ WARNING

To reduce the risks associated with exposure to chemicals:

- Dispose according to current local/regional/national/industry standards and regulations.
- The user must train its personnel in current proper testing techniques; for example, Good Laboratory Practices[1] or ISO/IEC 17025[2].
- Always follow standard laboratory safety practices, including wearing appropriate protective apparel and eye protection while handling reagents.
- Avoid skin contact with the Neogen Stop Solution, see Safety Data Sheet for additional safety information.

To reduce the risks associated with false-negative results leading to the release of contaminated product:

- Store the Neogen Mollusk Protein ELISA Kit as indicated on the package and in the product instructions.
- Use the Neogen Mollusk Protein ELISA Kit for food and environmental samples that have been validated internally or by a third party.
- Follow the protocol and perform the tests exactly as stated in the product instructions.
- Neogen has not documented the use of the Neogen Mollusk Protein ELISA Kit in industries other than food or beverage. For example, Neogen has not documented this product for testing pharmaceutical, cosmetic, clinical or veterinary samples.

To reduce the risks associated with inaccurate results leading to the release of contaminated product:

- Always use the Neogen Mollusk Protein ELISA Kit by the expiration date.
- Always prepare working solutions using the Neogen Mollusk Protein ELISA Kit concentrated reagents at 20-25°C temperature.
- Do not freeze the Neogen Mollusk Protein Standard Concentrate.
- If Chromogenic Substrate Solution turns blue, do not use. Follow Good Laboratory Practices[1] to avoid cross-contamination of Neogen Chromogenic Substrate Solution.
- Neogen® Allergen Protein Testing Kits are not intended for the detection of hydrolyzed proteins.
- The Neogen Allergen Protein Testing Kits are designed to detect proteins from processed food once they are solubilized into Neogen Extraction Buffer. Some food processing methods may limit detection of these target proteins.
- Some food processing may affect the detection of food proteins with Neogen Allergen Protein Testing Kits. Users should verify that the method is fit for purpose to meet user's requirements.

NOTICE

To reduce the risks associated with inaccurate results:

- Sample stability after extractions has not been evaluated. The ELISA procedure should be carried out, right after sample extraction.
- Handle Neogen Mollusk Protein Standards following Good Laboratory Practices[1] to prevent cross-contamination of samples.

Consult the Safety Data Sheet for additional information.

For information on documentation of product performance, visit our website at www.neogen.com or contact your local Neogen representative or distributor.

User Responsibility

Users are responsible for familiarizing themselves with product instructions and information. Visit our website at **www.neogen.com**, or contact your local Neogen representative or distributor for more information.

As with all test methods used for food analysis the test matrix can influence the results. When selecting a test method, it is important to recognize that external factors such as sampling methods, testing protocols, sample preparation, handling, and laboratory technique may influence results. The food sample itself may influence results.

It is the user's responsibility in selecting any test method or product to evaluate a sufficient number of samples to satisfy the user that the chosen test method meets the user's criteria.

It is also the user's responsibility to determine that any test methods and results meet its customers' and suppliers' requirements.

As with any test method, results obtained from use of any Neogen Food Safety product do not constitute a guarantee of the quality of the matrices or processes tested.

Limitation of Warranties/Limited Remedy

EXCEPT AS EXPRESSLY STATED IN A LIMITED WARRANTY SECTION OF INDIVIDUAL PRODUCT PACKAGING, NEOGEN DISCLAIMS ALL EXPRESS AND IMPLIED WARRANTIES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO, ANY WARRANTIES OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR USE. If any Neogen Food Safety Product is defective, Neogen or its authorized distributor will, at its option, replace or refund the purchase price of the product. These are your exclusive remedies. Please contact your Neogen representative or authorized Neogen distributor for any further questions.

Limitation of Neogen Liability

NEOGEN WILL NOT BE LIABLE FOR ANY LOSS OR DAMAGES, WHETHER DIRECT, INDIRECT, SPECIAL, INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO LOST PROFITS. In no event shall Neogen's liability under any legal theory exceed the purchase price of the product alleged to be defective.

Storage and Disposal

Store Neogen Mollusk Protein ELISA Kit contents at 2-8°C. Do not freeze. Store diluted working solutions as described in Table 1.

Neogen Mollusk Protein ELISA Kit components should not be used past the expiration date. Expiration date and lot number are noted on the outside label of the box.

Dispose according to current local/regional/national/industry standards and regulations.

Instructions for Use

Follow all instructions carefully. Failure to do so may lead to inaccurate results.

Reagent Preparation

Bring all reagents to ambient temperature (20-25°C) before use. Use clean labware to dilute and store working solutions.

a. Neogen Extraction Buffer

To prepare 1X Extraction Buffer, add one part of Neogen Extraction Buffer (4X) and dilute in three parts of deionized or distilled water. Pre-warm the Extraction Buffer (1X) to 50-60°C in a water bath or shaking incubator before use. Each sample requires 4.5 mL of 1X Extraction Buffer.

b. Neogen Diluent Solution

To prepare 1X Diluent solution, add one part of Neogen Diluent (5X) to four parts of deionized or distilled water. Each sample requires a total of 4.5 mL of 1X Diluent solution.

c. Neogen Wash Solution

To prepare 1X Wash Solution, add one part of Neogen Wash Solution (20X) to 19 parts of deionized or distilled water. Each Neogen ELISA Well requires approximately 2.5 mL of 1X Wash Solution.

Note: The formation of crystals in the Neogen Wash Solution (20X) may occur when stored at 2-8°C. To dissolve crystals, warm the Neogen Wash Solution (20X) to 30-35°C in a water bath or incubator before preparing the Wash Solution (1X).

d. Neogen Mollusk HRP Conjugate

To prepare 1X Mollusk HRP Conjugate, add one part of Neogen Mollusk HRP Conjugate (10X) and dilute in 9 parts of **1X Diluent solution**. Prepare immediately before use. Each Neogen ELISA Well requires 100 µL of 1X Mollusk HRP Conjugate.

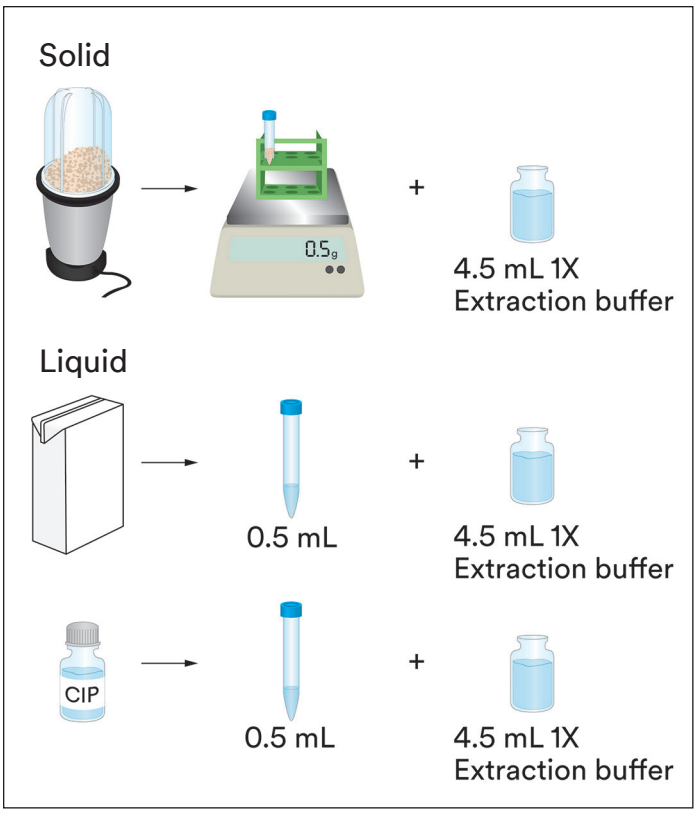
Sample Preparation

Note: All samples should be extracted with 1X Extraction Buffer pre-warmed to 50-60°C.

1.1 Prepare sample for protein extraction in a clean test tube or disposable tube as described in Table 2.

Table 2. Sample preparation

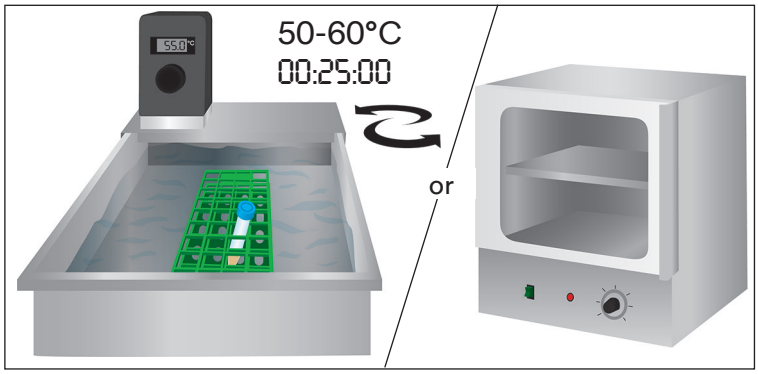
Sample matrix	Sample size	Dilution (1/10)
Solid foods	0.5 ± 0.02 g	Add 4.5 ± 0.09 mL of pre-warmed 1X Extraction Buffer
Liquid foods	0.5 ± 0.01 mL	Add 4.5 ± 0.09 mL of pre-warmed 1X Extraction Buffer
Clean-in-Place (CIP) Final Rinse Water	0.5 ± 0.01 mL	Add 4.5 ± 0.09 mL of pre-warmed 1X Extraction Buffer

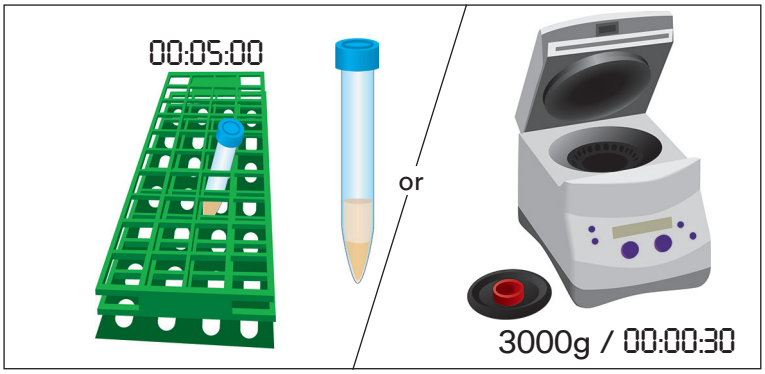


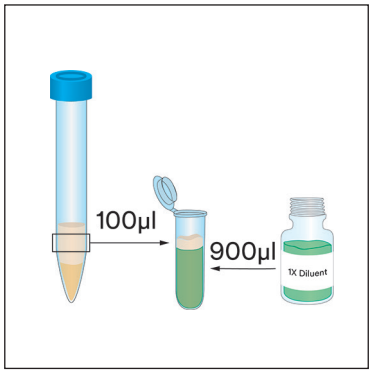
1.2 Incubate diluted samples in a shaking water bath or shaking incubator at 50-60°C for 25 ± 1 minutes. Another option is to leave the samples in a water bath or incubator at 50-60°C and manually shake for 1 minute every 5 minutes.

1.3 After incubation, centrifuge samples at 5000-7000 rpm (3000 x *g*) for 20 to 30 seconds to pellet particulates or allow them to settle for 5 minutes in a test tube rack.

1.4 Collect a 100 µL from middle (aqueous) layer and add it to 900 µL of Diluent Solution (1X). Vortex or shake to mix well. (This corresponds to a 1/100 dilution of the original sample.)







ELISA Procedure

2.1 Remove one Neogen ELISA Well per sample and/or standard and place the wells in the well holder. Return the unused Neogen ELISA Wells to the foil pouch, re-seal and return to storage at 2-8°C.

2.2 Utilizing the Neogen Mollusk Protein Standard Concentrate, prepare a set of four standards diluted in Diluent Solution (1X).

Standard Number	Standard Concentration (ng/mL)	Volume of standard added to 1X Diluent	Volume of 1X Diluent solution
4	270	10 µL of Neogen Mollusk Protein Standard Concentrate	990 µL
3	90	200 µL of standard number 4	400 µL
2	30	200 µL of standard number 3	400 µL
1	10	200 µL of standard number 2	400 µL
0	0	0	400 µL

2.3 Pipette 100 µL of each standard into Neogen ELISA Wells.

- Standard 0 (1X Diluent Solution)
- Standard 1 (10 ng/mL) ppb
- Standard 2 (30 ng/mL) ppb
- Standard 3 (90 ng/mL) ppb
- Standard 4 (270 ng/mL) ppb

2.4 Pipette 100 µL of the extracted sample prepared in 1.4 into a Neogen ELISA Well.

2.5 Incubate Neogen ELISA Wells on an orbital shaker set at 400 rpm at ambient temperature (20-25°C) for 30 ± 2 minutes. Keep the wells covered and level during this step to prevent evaporation.

2.6 After incubation, aspirate the contents of the Neogen ELISA Wells.

2.7 Fill completely each Neogen ELISA Well with 1X Wash Solution and aspirate. If the wash is done manually, invert the plate and pour/shake out the contents in a waste container and strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual wash solution. Repeat this step three times for a total of four washes.

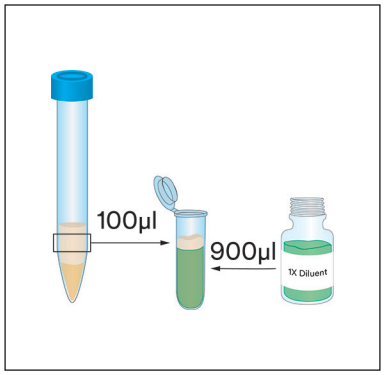
2.8 Pipette 100 µL of 1X Mollusk HRP Conjugate into each Neogen ELISA Well. Incubate on an orbital shaker set at 400 rpm at ambient temperature for 10 ± 2 minutes. Keep plate covered in the dark and level during this step.

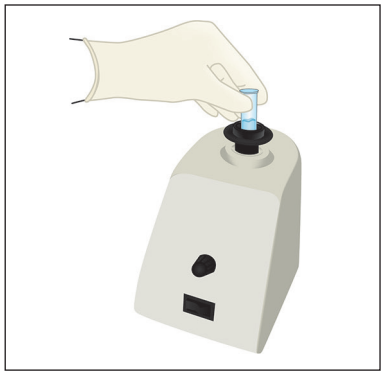
2.9 Repeat steps 2.6 and 2.7 to complete a total of four washes with Wash Solution (1X).

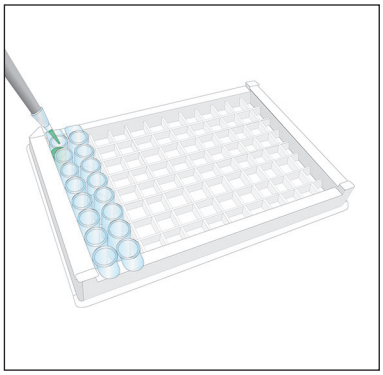
2.10 Pipette 100 µL of Neogen Chromogenic Substrate Solution (TMB) into each Neogen ELISA Well.

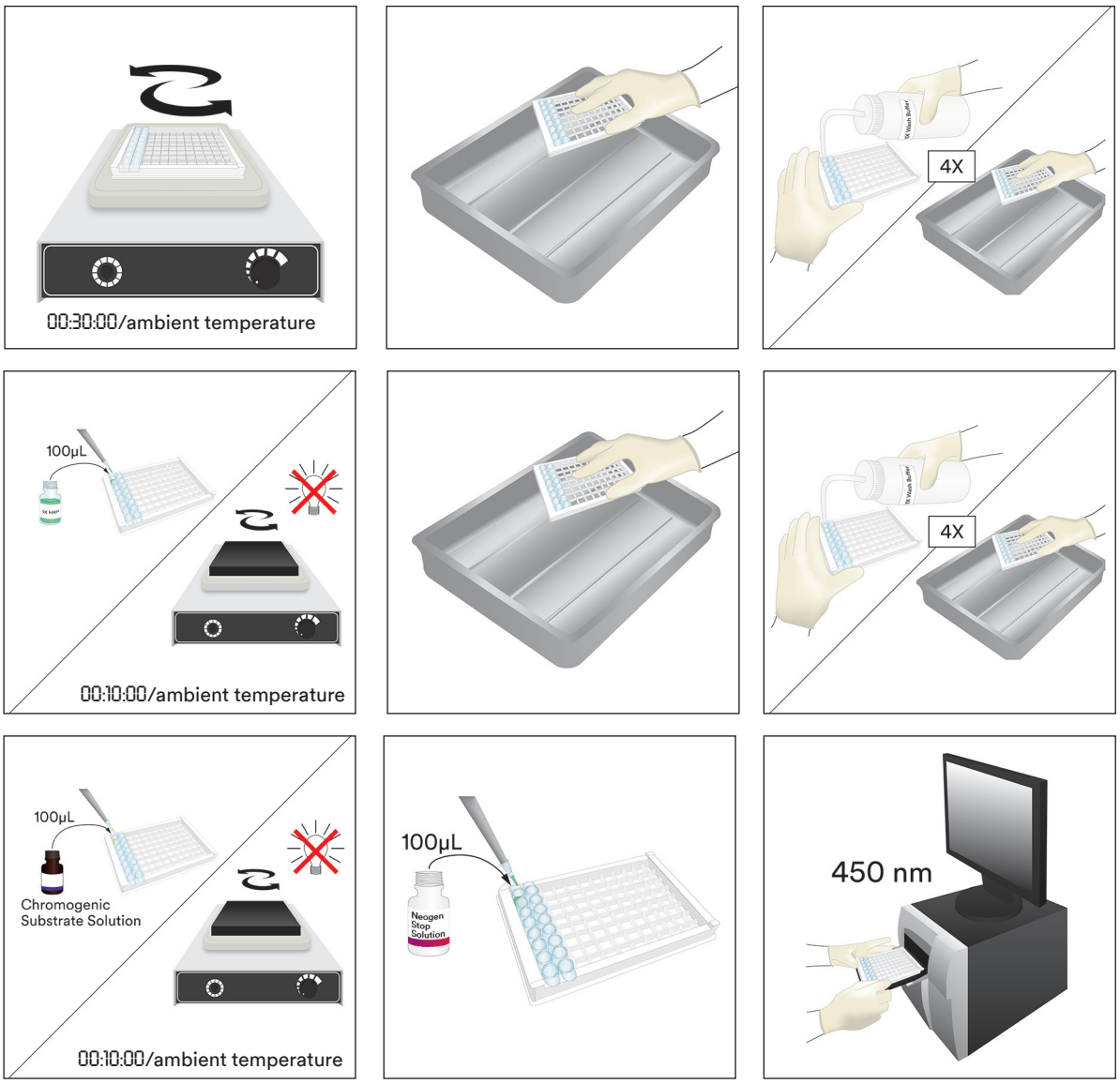
2.11 Incubate on an orbital shaker set at 400 rpm at ambient temperature for 10 minutes. Keep plate covered in the dark and level during this step.

2.12 After incubation, add 100 µL of Neogen Stop Solution to each Neogen ELISA Well and determine the absorbance (at 450 nm) within 30 minutes.









Result Analysis

3.1 Subtract the average background value for each sample (Average absorbance reading of the sample minus average absorbance reading of standard zero.)

3.2 Using a computer software capable of generating a four parameter logistic curve fit, construct a standard curve by plotting the concentration in ng/mL (ppb) on the x-axis and the absorbance reading to each corresponding standard on the y-axis. A second order polynomial (quadratic) or other curve fits may also be used; however, they will be a less precise fit of the data.

3.3 Calculate the sample concentrations off the standard curve; the result unit is in ng/mL (ppb). Then, multiply by sample dilution factor to get the concentration of original sample. For example, if the total dilution of the sample is 1/100, and the sample concentration of the standard curve is 200 ng/mL (ppb), the final sample concentration is 200 ng/mL x 100 = 20,000 ng/mL (ppb) which is 20 µg/mL (ppm).

Minimum Performance Characteristics

a. The analytical Limit of Detection (LOD) is 7.2 ng/mL (ppb)

The limit of detection is defined as the lowest concentration of the allergen in a test sample that can be distinguished from a true blank sample at a specified probability level[3]. It is determined by adding three standard deviations to the mean optical density value of forty-eight standard zero replicates and calculating the corresponding concentration.

b. The Limit of Quantification (LOQ) is 1 ppm

The limit of quantification is defined as the lowest level of the allergen in a test sample that can be reasonably quantified at a specified level of precision[3].

Precision

Intra-Assay Precision	Average %CV = <10	N=12
Inter-Assay Precision	Average %CV = <10	N=12

References

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

Explanation of Symbols

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

NEOGEN®

Instructions relatives au produit

Kit ELISA Protéine Mollusque

Méthode immuno-enzymatique (ELISA) destinée à l'analyse quantitative des protéines de mollusque.

Description et utilisation du produit

Le Kit ELISA Neogen® Protéine Mollusque est conçu pour détecter des protéines de mollusque dans l'eau de rinçage final d'un processus de nettoyage (PN), des échantillons d'écouvillons environnementaux, dans des ingrédients alimentaires et dans des produits alimentaires transformés.

Le Kit ELISA Neogen Protéine Mollusque utilise un test ELISA en sandwich. Les protéines de mollusque présentes dans l'échantillon réagissent avec les anticorps anti-mollusque qui ont été adsorbés à la surface des puits de microtitration en polystyrène. Après élimination par lavage des protéines non fixées, on ajoute des anticorps anti-mollusque couplés à la peroxydase de raifort (HRP). Ces anticorps marqués par l'enzyme forment des complexes avec la protéine de mollusque qui s'est fixée dans l'étape précédente. Suite à une seconde étape de lavage, l'enzyme liée à l'immuno-adsorbant est détectée en lui ajoutant un substrat chromogène, la 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB). L'apparition de la couleur issue de cette réaction enzymatique varie en fonction directe de la concentration de protéine de mollusque dans l'échantillon testé ; par conséquent, l'absorbance à 450 nm représente une mesure de la concentration de protéine de mollusque dans l'échantillon testé. La quantité de protéine de mollusque contenue dans l'échantillon testé peut être extrapolée à partir de la courbe étalon, obtenue à partir de solutions étalons de concentration connue, puis ajustée pour tenir compte de la dilution de l'échantillon.

Le Kit ELISA Neogen Protéine Mollusque est conçu pour être utilisé en laboratoire, par des professionnels formés aux techniques de laboratoire. Neogen n'a pas étudié l'utilisation de ce produit dans des secteurs autres que ceux de l'alimentaire et des boissons. Par exemple, Neogen n'a pas étudié ce produit dans le cadre de tests sur des échantillons de produits pharmaceutiques, cosmétiques, cliniques ou vétérinaires. Le Kit ELISA Neogen Protéine Mollusque n'a pas été évalué avec tous les produits, processus alimentaires et protocoles de tests possibles.

Le Kit ELISA Neogen Protéine Mollusque contient 96 puits, décrits dans le Tableau 1.

Tableau 1. Contenu du kit

Élément	Identification	Préparation (voir la section Préparation des réactifs pour plus de détails)	Stockage	Stabilité
Puits ELISA Neogen® Protéine de Mollusque	Un sachet hermétique contenant une plaque de 96 puits amovibles recouverts d'anticorps.	Prêts à l'emploi.	2 à 8 °C dans le sachet scellé avec un agent dessiccateur.	Refermer hermétiquement le sachet contenant les puits non utilisés et le dessiccateur. Conserver entre 2 et 8 °C pour maintenir la stabilité jusqu'à la date de péremption du kit.
Conjugué HRP Neogen® Mollusque (10X)	Une ampoule avec 1,5 mL d'anticorps couplés à la peroxydase de raifort (HRP) 10X (10X).	Diluer à 1/10 juste avant utilisation pour obtenir une solution de travail 1X.	2 à 8 °C à l'obscurité.	Le conjugué 10X est stable jusqu'à la date de péremption du kit.

Étalon concentré Neogen® Protéine Mollusque 	Une ampoule de solution de protéine de mollusque de concentration connue.	Se référer à la section Procédure du test ELISA pour la préparation de la solution étalon.	2 à 8 °C. Ne pas congeler.	L'Étalon concentré Neogen Protéine Mollusque est stable jusqu'à la date de péremption du kit.
Diluant Neogen® (5X) 	Un flacon de 50 mL de Diluant 5X.	Diluer à 1/5 juste avant utilisation pour obtenir une solution de travail 1X.	2-8 °C	La Solution de diluant Neogen 5X est stable jusqu'à la date de péremption du kit.
Solution de lavage Neogen® (20X) 	Un flacon de 50 mL de solution de lavage 20X.	Diluer à 1/20 pour obtenir une solution de travail 1X.	2 à 8 °C aussi bien pour la solution de travail 1X que pour le concentré de Solution de lavage 20X.	La Solution de lavage Neogen 20X est stable jusqu'à la date de péremption du kit. La Solution de lavage 1X est stable pendant au moins une semaine après préparation.
Tampon d'extraction Neogen® E26 (4X) 	Un flacon de 120 mL de tampon d'extraction 4X.	Diluer à 1/4 pour obtenir une solution de travail 1X. La solution de travail doit être chauffée à 50 à 60 °C avant utilisation.	2 à 8 °C aussi bien pour la solution de travail 1X que pour le concentré de Tampon d'extraction Neogen 4X.	Le Tampon d'extraction 1X et le Tampon d'extraction Neogen 4X sont stables jusqu'à la date de péremption du kit.
Solution de substrat chromogène Neogen® 	Un flacon de 12 mL de 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB).	Prêts à l'emploi.	2 à 8 °C à l'obscurité.	Protéger de la lumière. La Solution de substrat chromogène Neogen est stable jusqu'à la date de péremption du kit.
Solution d'arrêt Neogen® 	Un flacon de 12 mL d'acide sulfurique à 0,3 M.	Prêts à l'emploi.	2-8 °C	La Solution d'arrêt Neogen est stable jusqu'à la date de péremption du kit.

Accessoires non inclus dans le kit :

- Pipettes de précision et leurs embouts pour pipetter de 10 à 100 µL
- Éprouvettes
- Laveur/aspirateur pour plaque de microtitration
- Eau distillée ou désionisée
- Lecteur de test de microtitration
- Divers ustensiles de laboratoire pour la préparation des solutions de réactifs et de tampon
- Minuteur
- Vortex
- Bain-marie à agitation ou agitateur incubateur
- Agitateur orbital

Consignes de sécurité

L'utilisateur doit lire attentivement, comprendre et respecter toutes les consignes de sécurité fournies dans les instructions relatives au Kit ELISA Neogen Protéine Mollusque. Conserver ces consignes de sécurité pour s'y référer ultérieurement.

⚠ **AVERTISSEMENT :** Indique une situation dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner un décès, des blessures graves et/ou des dommages matériels.

REMARQUE : Indique une situation potentiellement dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner des dommages matériels.

⚠VERTISSEMENT

Pour réduire les risques associés à l'exposition à des produits chimiques :

- Mettre au rebut conformément aux normes et réglementations locales/régionales/nationales/du secteur.
- L'utilisateur doit former son personnel aux techniques correctes de test ; par exemple aux Bonnes pratiques de laboratoire[1] ou à la norme ISO/CEI 17025[2].
- Toujours se conformer aux pratiques de sécurité standards en laboratoire, notamment le port d'un équipement de protection adéquat et de lunettes de protection pour manipuler les réactifs.
- Éviter le contact de la Solution d'arrêt Neogen avec la peau, voir la Fiche de données de sécurité pour davantage d'informations sur la sécurité.

Pour réduire les risques associés aux résultats faux négatifs, qui peuvent entraîner la diffusion de produits contaminés :

- Conserver le Kit ELISA Neogen Protéine Mollusque conformément aux indications fournies sur l'emballage et dans les instructions relatives au produit.
- Utiliser le Kit ELISA Neogen Protéine Mollusque pour les échantillons alimentaires et environnementaux qui ont été validés en interne ou par une tierce partie.
- Se conformer au protocole et effectuer les tests en suivant exactement les instructions relatives au produit.
- Neogen n'a pas étudié l'utilisation du Kit ELISA Neogen Protéine Mollusque dans des secteurs autres que ceux de l'alimentaire et des boissons. Par exemple, Neogen n'a pas étudié ce produit dans le cadre de tests sur des échantillons de produits pharmaceutiques, cosmétiques, cliniques ou vétérinaires.

Pour réduire les risques liés aux résultats inexacts, qui peuvent entraîner la diffusion de produits contaminés :

- Toujours utiliser le Kit ELISA Neogen Protéine Mollusque avant sa date de péremption.
- Toujours préparer les solutions de travail en utilisant les réactifs concentrés du Kit ELISA Neogen Protéine Mollusque portés à une température de 20 à 25 °C.
- Ne pas congeler l'Étalon concentré Neogen Protéine de Mollusque.
- Si la Solution de substrat chromogène bleuit, ne pas l'utiliser. Conformez-vous aux Bonnes pratiques de laboratoire[1] pour éviter la contamination croisée par la Solution de substrat chromogène Neogen.
- Les kits Neogen® Allergènes Protéines ne sont pas adaptés pour la détection d'hydrolysats de protéines.
- Les kits Neogen Protéines Allergènes sont conçus pour détecter les protéines lorsqu'elles sont solubilisées dans le tampon d'extraction Neogen. Certains process de fabrication peuvent limiter la détection de ces protéines cibles.
- Certains process alimentaires peuvent affecter la détection des protéines par les kits Neogen Protéines Allergènes. Les utilisateurs doivent vérifier que la méthode est adaptée pour répondre aux besoins de l'utilisateur.

REMARQUE

Pour réduire les risques découlant de faux résultats :

- La stabilité des échantillons suite à leur extraction n'a pas été évaluée. La procédure ELISA doit être mise en œuvre juste après l'extraction des échantillons.
- Manipuler les Étalons Neogen Protéine Mollusque en respectant les Bonnes pratiques de laboratoire[1] pour éviter la contamination croisée des échantillons.

Consulter la fiche de données de sécurité du produit pour plus de renseignements.

Pour obtenir une documentation sur la performance de ce produit, veuillez consulter notre site Internet www.neogen.com ou contacter un représentant ou distributeur Neogen local.

Responsabilité de l'utilisateur

Il incombe aux utilisateurs de connaître les instructions et les informations relatives au produit. Rendez-vous sur notre site **www.neogen.com** ou contactez votre représentant ou distributeur Neogen local pour obtenir de plus amples informations.

Comme pour toutes les autres méthodes de test utilisées à des fins d'analyses alimentaires, la matrice analysée peut influer sur les résultats. Lors du choix d'une méthode de test, il est important d'admettre que des facteurs externes comme les méthodes d'échantillonnage, les protocoles de test, la préparation des échantillons, la manipulation et les techniques de laboratoires peuvent influencer les résultats. L'échantillon alimentaire en tant que tel peut influer sur les résultats.

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de choisir une méthode de test ou un produit pour évaluer un nombre suffisant d'échantillons afin de s'assurer que la méthode de test choisie répond à ses critères.

Il incombe également à l'utilisateur de déterminer si une méthode d'analyse et ses résultats répondent aux exigences de ses clients ou fournisseurs.

Comme pour toute méthode d'analyse, les résultats obtenus avec un produit Neogen Sécurité Alimentaire ne constituent pas une garantie de la qualité des matrices ou des processus testés.

Limitation de garantie/Limites de recours

SAUF SI EXPRESSÉMENT ÉTABLI DANS LA SECTION DE GARANTIE LIMITÉE D'UN EMBALLAGE DE PRODUIT INDIVIDUEL, NEOGEN RENONCE À TOUTE GARANTIE EXPLICITE ET IMPLICITE, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, TOUTE GARANTIE DE COMMERCIALISATION OU D'ADAPTATION POUR UN USAGE SPÉCIFIQUE. En cas de défaut de tout produit Neogen Sécurité Alimentaire, Neogen ou son distributeur agréé s'engage, à son entière discrétion, au remplacement ou au remboursement du prix d'achat du produit. Il s'agit de vos recours exclusifs. Merci de contacter votre représentant Neogen ou votre distributeur Neogen agréé pour toute autre question.

Limitation de responsabilité de Neogen

NEOGEN NE SERA PAS TENUE RESPONSABLE DES PERTES OU DES DOMMAGES ÉVENTUELS, QU'ILS SOIENT DIRECTS, INDIRECTS, SPÉCIFIQUES, ACCIDENTELS OU CONSÉCUTIFS, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, LES PERTES DE PROFITS. En aucun cas et en aucune manière, la responsabilité de Neogen ne sera engagée au-delà du prix d'achat du produit prétendu défectueux.

Conservation et élimination des déchets

Conserver le contenu du Kit ELISA Neogen Protéine Mollusque à 2 à 8 °C. Ne pas congeler. Conserver les solutions de travail comme décrit dans le Tableau 1.

Le contenu du Kit ELISA Neogen Protéine Mollusque ne doit pas être utilisé au-delà de sa date de péremption. La date de péremption et le numéro de lot sont inscrits sur l'étiquette à l'extérieur de la boîte.

Mettre au rebut conformément aux normes et réglementations locales/régionales/nationales/du secteur.

Instructions d'utilisation

Suivre attentivement toutes les instructions. Dans le cas contraire, les résultats obtenus risquent d'être inexacts.

Préparation des réactifs

Porter tous les réactifs à température ambiante (20 à 25 °C) avant de les utiliser. Utiliser des ustensiles de laboratoire propres pour diluer et conserver les solutions de travail.

a. Tampon d'extraction Neogen

Pour préparer le Tampon d'extraction 1X, verser un volume de Tampon d'extraction Neogen (4X) et le diluer dans trois volumes d'eau distillée ou désionisée. Avant utilisation, préchauffer le Tampon d'extraction (1X) à 50 à 60 °C à l'aide d'un bain-marie ou d'un agitateur incubateur. Chaque échantillon nécessite 4,5 mL de Tampon d'extraction 1X.

b. Solution de diluant Neogen

Pour préparer la solution de Diluant 1X, verser un volume de Diluant Neogen (5X) dans quatre volumes d'eau distillée ou désionisée. Chaque échantillon nécessite au total 4,5 mL de solution de Diluant 1X.

c. Solution de lavage Neogen

Pour préparer la Solution de lavage 1X, verser un volume de Solution de lavage Neogen (20X) dans 19 volumes d'eau distillée ou désionisée. Chaque Puits ELISA Neogen nécessite environ 2,5 mL de Solution de lavage 1X.

Remarque : Il peut se former des cristaux dans la Solution de lavage Neogen (20X) lorsqu'elle est conservée à 2 à 8 °C. Pour dissoudre les cristaux, porter la Solution de lavage Neogen (20X) à 30 à 35 °C au bain-marie ou dans un incubateur avant de préparer la Solution de lavage (1X).

d. Conjugué HRP Neogen Mollusque

Pour préparer le Conjugué HRP Mollusque 1X, verser un volume de Conjugué HRP Neogen Mollusque (10X) et le diluer dans 9 volumes de **solution de Diluant 1X**. Préparer juste avant utilisation. Chaque Puits ELISA Neogen nécessite 100 µL de Conjugué HRP Mollusque 1X.

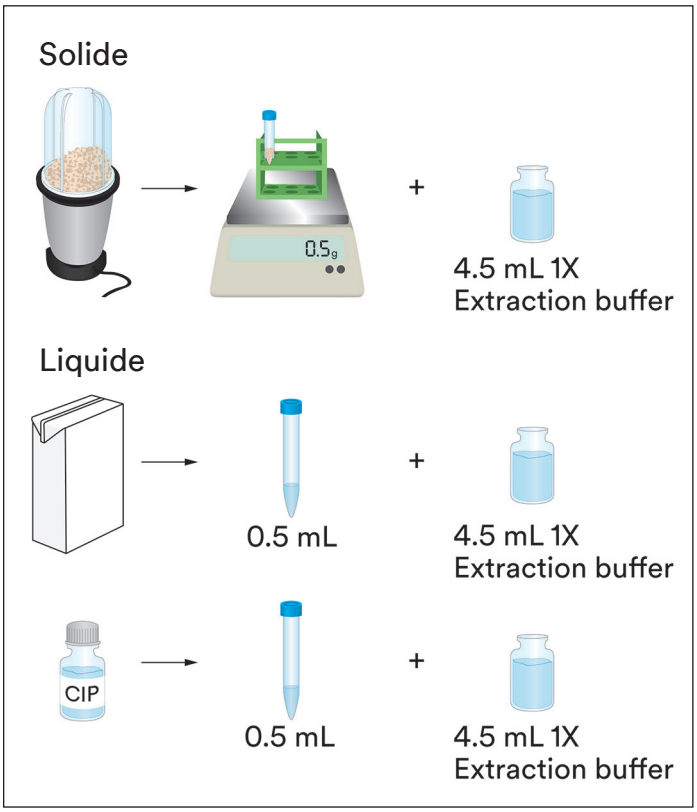
Préparation de l'échantillon

Remarque : Tous les échantillons doivent être extraits à l'aide du Tampon d'extraction 1X préchauffé à 50 à 60 °C.

1.1 Préparer l'échantillon pour l'extraction des protéines, dans une éprouvette propre ou un tube jetable, comme décrit dans le Tableau 2.

Tableau 2. Préparation de l'échantillon

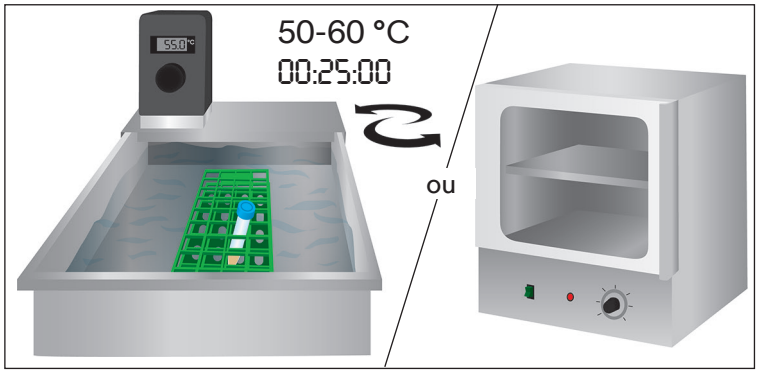
Matrice de l'échantillon	Taille de l'échantillon	Dilution (1/10)
Aliments solides	0,5 ± 0,02 g	Verser 4,5 ± 0,09 mL de Tampon d'extraction 1X préchauffé
Aliments liquides	0,5 ± 0,01 mL	Verser 4,5 ± 0,09 mL de Tampon d'extraction 1X préchauffé
Eau de rinçage final d'un processus de nettoyage (PN)	0,5 ± 0,01 mL	Verser 4,5 ± 0,09 mL de Tampon d'extraction 1X préchauffé

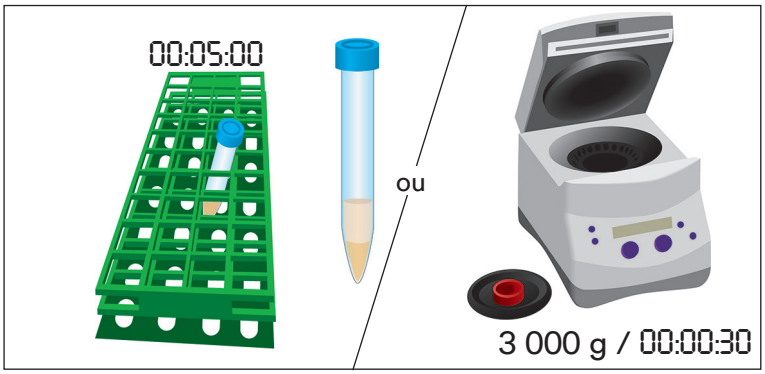


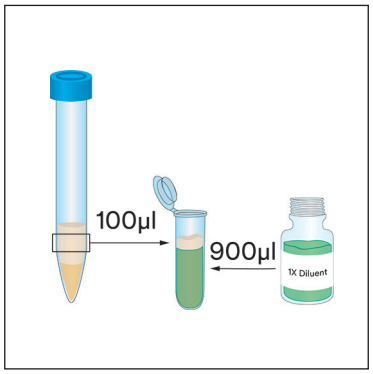
1.2 Incuber les échantillons dilués à 50 à 60 °C, dans un bain-marie ou un incubateur avec agitation, pendant 25 ± 1 minute. Il est également possible de laisser les échantillons dans un bain-marie ou un incubateur à 50 à 60 °C et de les agiter manuellement pendant 1 minute toutes les 5 minutes.

1.3 Après incubation, centrifuger les échantillons à 5 000-7 000 tr/min (3 000 x *g*) pendant 20 à 30 secondes pour éliminer les particules ou les laisser reposer pendant 5 minutes dans un support pour éprouvettes.

1.4 Prélever 100 µL de phase aqueuse au milieu du tube et les ajouter à 900 µL de Solution de diluant (1X). Passer au vortex ou agiter pour bien mélanger. (Cette solution correspond à une dilution à 1/100 de l'échantillon de départ.)







Procédure du test ELISA

2.1 Prélever un Puits ELISA Neogen par échantillon et/ou étalon et placer les puits dans le support à micropuits. Remettre les Puits ELISA Neogen non utilisés dans le sachet, le refermer hermétiquement et le conserver à nouveau à 2 à 8 °C.

2.2 En utilisant l'Étalon concentré Neogen Protéine de Mollusque, préparer une série de quatre solutions étalons, diluées dans la Solution de diluant (1X).

Numéro de l'étalon	Concentration de l'étalon (ng/mL)	Volume d'étalon ajouté au Diluant 1X	Volume de solution de Diluant 1X
4	270	10 µL d'Étalon concentré Neogen Protéine de Mollusque	990 µL
3	90	200 µL d'étalon n°4	400 µL
2	30	200 µL d'étalon n°3	400 µL
1	10	200 µL d'étalon n°2	400 µL
0	0	0	400 µL

2.3 Pipetter 100 µL de chaque solution étalon dans des Puits ELISA Neogen.

- Étalon 0 (Solution de diluant 1X)
- Étalon 1 (10 ng/mL) ppb
- Étalon 2 (30 ng/mL) ppb
- Étalon 3 (90 ng/mL) ppb
- Étalon 4 (270 ng/mL) ppb

2.4 Pipetter 100 µL de l'échantillon extrait préparé à l'étape 1.4 dans un Puits ELISA Neogen .

2.5 Incuber les Puits ELISA Neogen dans un agitateur orbital réglé sur 400 tr/min à température ambiante (20 à 25 °C) pendant 30 ± 2 minutes. Pendant cette étape, maintenir les puits couverts et à niveau pour prévenir l'évaporation.

2.6 Après incubation, aspirer le contenu des Puits ELISA Neogen.

2.7 Remplir complètement chaque Puits ELISA Neogen avec la Solution de lavage 1X et aspirer. Si le lavage est effectué manuellement, retourner la plaque, verser/secouer le contenu des puits au-dessus d'un contenant pour déchets et tapoter fermement les puits sur du papier absorbant pour enlever les résidus de solution de lavage. Répéter cette étape trois fois pour un total de quatre lavages.

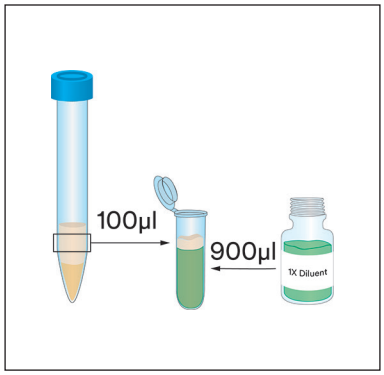
2.8 Pipetter 100 µL de Conjugué HRP Mollusque 1X dans chaque Puits ELISA Neogen. Incuber dans un agitateur orbital réglé sur 400 tr/min, à température ambiante, pendant 10 ± 2 minutes. Maintenir la plaque couverte, dans l'obscurité et à niveau pendant cette étape.

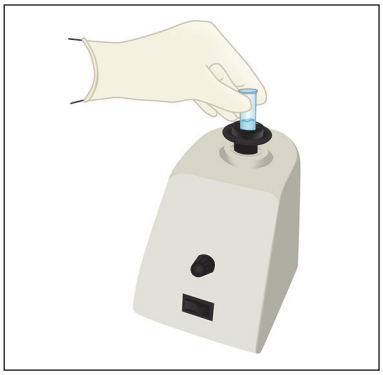
2.9 Répéter les étapes 2.6 et 2.7 pour effectuer au total quatre lavages avec la Solution de lavage (1X).

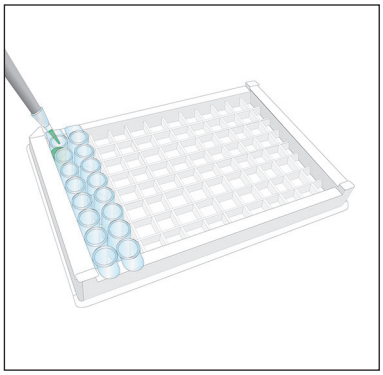
2.10 Pipetter 100 µL de Solution de substrat chromogène Neogen dans chaque Puits ELISA Neogen.

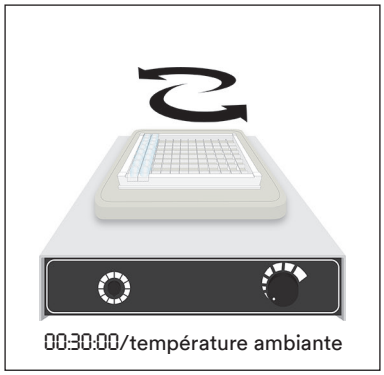
2.11 Incuber dans un agitateur orbital réglé sur 400 tr/min, à température ambiante, pendant 10 minutes. Maintenir la plaque couverte, dans l'obscurité et à niveau pendant cette étape.

2.12 Après incubation, verser 100 µL de Solution d'arrêt Neogen dans chaque Puits ELISA Neogen et déterminer l'absorbance (à 450 nm) dans un délai de 30 minutes.

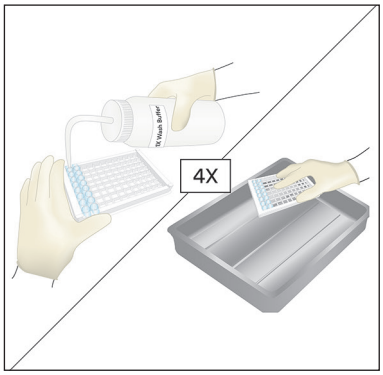


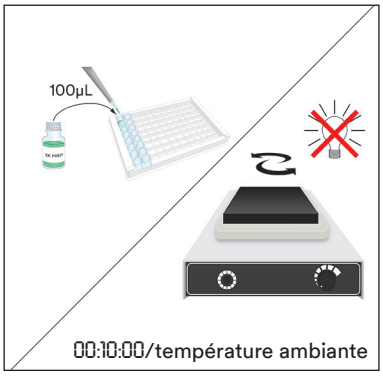




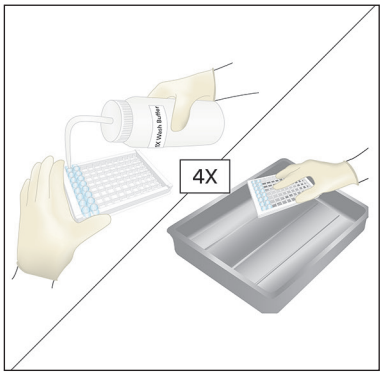


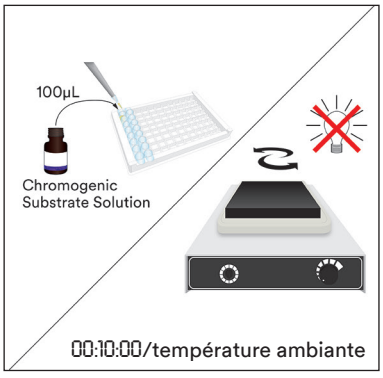


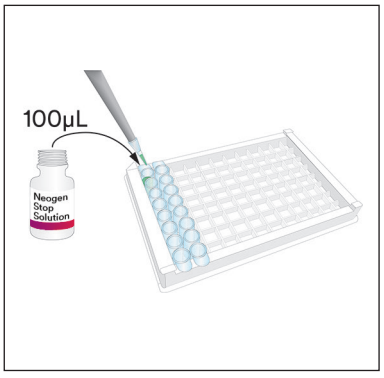


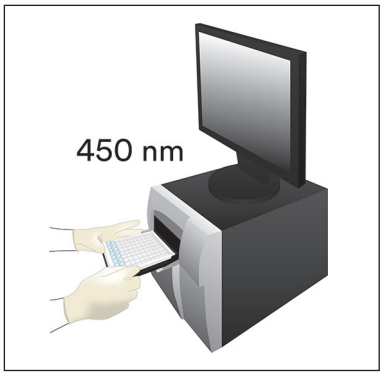












Analyse des résultats

3.1 Soustraire la valeur de fond moyenne pour chaque échantillon (la mesure d'absorbance moyenne de l'échantillon moins la mesure d'absorbance moyenne de l'étalon zéro).

3.2 À l'aide d'un logiciel informatique capable de générer un modèle d'ajustement logistique à quatre paramètres, construire une courbe étalon en plaçant la concentration en ng/mL (ppb) sur l'axe des abscisses et la mesure d'absorbance sur l'axe des ordonnées. Une fonction polynôme du second degré (quadratique) ou d'autres modèles d'ajustement de courbes peuvent être utilisés ; cependant, ils donneront un ajustement des données moins précis.

3.3 Calculer les concentrations des échantillons à l'aide de la courbe étalon ; l'unité des résultats est le ng/mL (ppb). Puis, multiplier par le facteur de dilution de l'échantillon pour obtenir la concentration de l'échantillon de départ. Par exemple, si la dilution totale de l'échantillon est de 1/100, et que la concentration de l'échantillon, donnée par la courbe étalon, est de 200 ng/mL (ppb), la concentration finale de l'échantillon est 200 ng/mL x 100 = 20 000 ng/mL (ppb), soit 20 µg/mL (ppm).

Caractéristiques des performances minimales

a. La Limite de détection (LOD) analytique est de 7,2 ng/mL (ppb).

La limite de détection est définie comme la plus faible concentration d'allergène présente dans un échantillon testé qui peut être distinguée d'un échantillon blanc véritable, à un niveau de probabilité spécifié[3]. Elle est déterminée en ajoutant trois déviations standards à la valeur moyenne de densité optique de 48 répliques zéro standards et en calculant la concentration correspondante.

b. La limite de quantification (LOQ) est de 1 ppm.

La limite de quantification est définie comme la plus faible concentration d'allergène présente dans un échantillon testé qui peut être raisonnablement quantifiée, à un niveau de précision spécifié[3].

Précision

Précision intra-test	% CV moyen = <10	N = 12
Précision inter-test	% CV moyen = <10	N = 12

Références

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.

2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.

3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

Explication des symboles

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

NEOGEN®

Gebrauchsanweisungen

Mollusken Protein ELISA Kit

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) zur quantitativen Analyse von Mollusken Proteinen.

Produktbeschreibung und Verwendungszweck

Das Neogen® Mollusken Protein ELISA Kit ist für das Screening auf Vorhandensein von Mollusken Proteinen in Clean-in-Place-Spülwasser (CIP), Umfeldabstrichen, Lebensmittelzutaten und verarbeiteten Lebensmitteln bestimmt.

Das Neogen Mollusken Protein ELISA Kit verwendet die Technik Sandwich-ELISA. Die in der Probe vorhandenen Mollusken Proteine reagieren mit dem Mollusken-Antikörper, der adsorptiv an die Oberfläche von Polystyrol-Mikrotiterplatten gebunden wurde. Nach dem Entfernen ungebundener Proteine durch Auswaschen werden die Mollusken-Antikörper, die mit Meerrettichperoxidase (HRP) konjugiert sind, zugegeben. Diese enzymmarkierten Antikörper bilden Komplexe mit dem zuvor gebundenen Mollusken Protein. Nach einem zweiten Waschschritt wird das an das Immunsorbens gebundene Enzym durch Zugabe eines chromogenen Substrats – 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) – nachgewiesen. Die Farbentwicklung dieser enzymatischen Reaktion hängt direkt von der Mollusken Proteinkonzentration in der getesteten Probe ab; somit ist die Extinktion bei 450 nm ein Maß für die Mollusken Proteinkonzentration in der Testprobe. Die Mollusken Proteinkonzentration in der Testprobe kann von der Standardkurve extrapoliert, aus Standardreihen mit bekannter Konzentration konstruiert und angepasst werden, um die Probenverdünnung zu berücksichtigen.

Das Neogen Mollusken Protein ELISA Kit ist für den Gebrauch in einer Laborumgebung durch in der Labortechnik ausgebildete Fachleute bestimmt. Neogen verfügt über keine Daten zur Anwendung dieses Produkts in anderen Industrien als der Lebensmittel- und Getränkeindustrie. Zum Beispiel verfügt Neogen über keine Daten zur Verwendung dieses Produkts mit Pharmazeutika-, Kosmetika- oder klinischen und tiermedizinischen Proben. Das Neogen Mollusken Protein ELISA Kit wurde nicht mit allen möglichen Lebensmittelprodukten, Lebensmittelprozessen und Testprotokollen geprüft.

Das Neogen Mollusken Protein ELISA Kit enthält 96 Mikrotiterplatten, die in Tabelle 1 beschrieben sind.

Tabelle 1. Inhalt des Sets

Artikel	Kennzeichnung	Vorbereitung (Weitere Informationen finden Sie im Abschnitt „Reagenzvorbereitung“.)	Lagerung	Stabilität
Neogen® Mollusken Protein ELISA-Mikrotiterplatten 	Ein Folienbeutel mit einer Platte mit 96 entnehmbaren, antikörperbeschichteten Mikrotiterplatten.	Gebrauchsfertig.	2–8 °C im verschlossenen Folienbeutel mit Trockenmittel.	Folienbeutel mit unbenutzten Mikrotiterplatten und Trockenmittel wieder verschließen. Lagerung bei 2–8 °C, um die Haltbarkeit bis zum Verfalldatum des Sets zu erhalten.
Neogen® Mollusken HRP-Konjugat (10x) 	Eine Durchstechflasche mit 1,5 ml 10x Meerrettichperoxidase (HRP) Konjugierter Antikörper (10x).	Verdünnen Sie 1/10 unmittelbar vor dem Gebrauch, um eine 1x Arbeitslösung herzustellen.	2–8 °C im Dunkeln.	Das 10x Konjugat ist bis zum Verfalldatum des Sets stabil.
Neogen® Mollusken Protein Standardkonzentrat 	Eine Ampulle mit bekannter Mollusken Proteinkonzentration.	Siehe Abschnitt „ELISA-Verfahren“ für Informationen zur Standardvorbereitung.	2–8 °C. Nicht einfrieren.	Das Neogen Mollusken Protein Standardkonzentrat ist bis zum Verfalldatum des Sets stabil.

Neogen® Verdünner (5x)	Eine Flasche mit 50 ml 5x Verdünner.	Verdünnen Sie 1/5 unmittelbar vor dem Gebrauch, um eine 1x Arbeitslösung herzustellen.	2–8 °C	Die 5x Neogen Verdünnungslösung ist bis zum Verfalldatum des Sets stabil.
Neogen® Waschlösung (20x)	Eine Flasche mit 50 ml 20x Waschlösung.	Verdünnen Sie 1/20, um eine 1x Arbeitslösung herzustellen.	2–8 °C für die 1x Arbeitslösung und das 20x Waschlösungskonzentrat.	Die 20x Neogen Waschlösung ist bis zum Verfalldatum des Sets stabil. Die 1x Waschlösung ist nach der Herstellung mindestens eine Woche lang stabil.
Neogen® Extraktionslösung E26 (4x)	Eine Flasche mit 120 ml 4x Extraktionslösung.	Verdünnen Sie 1/4, um eine 1x Arbeitslösung herzustellen. Die Arbeitslösung sollte vor Gebrauch auf 50–60 °C erwärmt werden.	2–8 °C für die 1x Arbeitslösung und das 4x Neogen Extraktionslösungskonzentrat.	Die 1x Extraktionslösung und die 4x Neogen Extraktionslösung sind bis zum Verfalldatum des Sets stabil.
Neogen® chromogene Substratlösung	Eine Flasche mit 12 ml 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB).	Gebrauchsfertig.	2–8 °C im Dunkeln.	Vor Licht schützen. Die Neogen chromogene Substratlösung ist bis zum Verfalldatum des Sets stabil.
Neogen® Stopplösung	Eine Flasche mit 12 ml 0,3 M Schwefelsäure.	Gebrauchsfertig.	2–8 °C	Die Neogen Stopplösung ist bis zum Verfalldatum des Sets stabil.

Material nicht im Lieferumfang des Sets enthalten:

- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen zum Aufnehmen von 10 bis 100 µl
- Teströhrchen
- Mikrotiterplatten-Washer/Aspirator
- Destilliertes oder entionisiertes Wasser
- Mikrotiterplattenleser
- Laborutensilien zur Herstellung von Reagenzien und Pufferlösungen
- Timer
- Vortexmischer
- Schüttelwasserbad oder Schüttelinkubator
- Orbitalschüttler

Sicherheit

Der Anwender sollte alle Sicherheitshinweise in den Anweisungen zum Neogen Mollusken Protein ELISA Kit lesen, verstehen und befolgen. Bewahren Sie diese Sicherheitshinweise auf, um später auf sie zurückgreifen zu können.

⚠ **WARNUNG:** Bezeichnet eine Gefahrensituation, die – wenn sie nicht vermieden wird – zum Tode oder zu schweren Verletzungen und/oder Sachschäden führen kann.

HINWEIS: Bezeichnet eine potenzielle Gefahrensituation, die – wenn sie nicht vermieden wird – zu Sachschäden führen kann.

⚠ WARNUNG

Zur Verringerung der mit der Exposition gegenüber Chemikalien verbundenen Risiken:

- Gemäß den geltenden lokalen/regionalen/branchenüblichen Standards und Vorschriften entsorgen.
- Der Benutzer muss sein Personal in den aktuellen geeigneten Testtechniken schulen; zum Beispiel gute Laborpraktiken[1] oder ISO 17025[2].
- Befolgen Sie immer die Standardsicherheitsmaßnahmen im Labor, einschließlich das Tragen angemessener Schutzkleidung und eines Augenschutzes beim Umgang mit Reagenzien.
- Vermeiden Sie Hautkontakt mit der Neogen Stopplösung, siehe Sicherheitsdatenblatt für zusätzliche Sicherheitsinformationen.

Um die Risiken eines falsch negativen Ergebnisses, die zur Freigabe eines kontaminierten Produkts führen würden, zu vermeiden:

- Lagern Sie das Neogen Mollusken Protein ELISA Kit wie auf der Packung und in den Gebrauchsanweisungen angegeben.
- Verwenden Sie das Neogen Mollusken Protein ELISA Kit für Lebensmittel- und Umweltproben, die intern oder durch Dritte validiert wurden.
- Befolgen Sie das Protokoll und führen Sie die Tests genau wie in der Gebrauchsanweisung angegeben durch.
- Neogen verfügt über keine Daten zur Anwendung des Neogen Mollusken Protein ELISA Kits in anderen Industrien als der Lebensmittel- und Getränkeindustrie. Zum Beispiel verfügt Neogen über keine Daten zur Verwendung dieses Produkts mit Pharmazeutika-, Kosmetika- oder klinischen und tiermedizinischen Proben.

Um die Risiken falscher Ergebnisse, die zur Freisetzung eines kontaminierten Produkts führen würden, zu vermeiden:

- Verwenden Sie das Neogen Mollusken Protein ELISA Kit immer vor Ablauf des Verfalldatums.
- Bereiten Sie Arbeitslösungen mit den konzentrierten Reagenzien des Neogen Mollusken Protein ELISA Kits immer bei 20–25 °C zu.
- Frieren Sie das Neogen Mollusken Protein Standardkonzentrat nicht ein.
- Verwenden Sie die chromogene Substratlösung nicht, wenn sie blau gefärbt ist. Befolgen Sie die guten Laborpraktiken,[1] um eine Kreuzkontamination der Neogen chromogenen Substratlösung zu vermeiden.
- Neogen® Allergen Protein Testkits sind nicht für den Nachweis von hydrolysierten Proteinen bestimmt.
- Die Neogen Allergen-Protein-Testkits wurden entwickelt, um Proteine aus verarbeiteten Lebensmitteln nachzuweisen, nachdem diese im Neogen Extraktionspuffer aufgelöst wurden. Einige Lebensmittelverarbeitungsmethoden können den Nachweis dieser Zielproteine einschränken.
- Einige Lebensmittelverarbeitungsprozesse können den Nachweis von Lebensmittelproteinen mit den Neogen Allergen-Protein-Testkits beeinträchtigen. Die Anwender sollten überprüfen, ob die Methode für den Zweck geeignet ist, die Anforderungen zu erfüllen.

HINWEIS

Zur Verringerung der Risiken, die mit inkorrekten Ergebnisse verbunden sind:

- Die Stabilität der Probe nach Extraktionen wurde nicht bewertet. Das ELISA-Verfahren sollte direkt nach der Probenextraktion durchgeführt werden.
- Behandeln Sie die Neogen Mollusken Protein Standardreihen gemäß den guten Laborpraktiken[1], um eine Kreuzkontamination der Proben zu vermeiden.

Weitere Informationen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Wenn Sie Informationen über ein bestimmtes Produkt wünschen, besuchen Sie unsere Website auf www.neogen.com oder wenden Sie sich an den lokalen Neogen-Verkaufsvertreter oder Händler.

Anwenderverantwortung

Anwender müssen sich auf eigene Verantwortung mit den Gebrauchsanweisungen und Informationen des Produkts vertraut machen. Für weitere Informationen, besuchen Sie unsere Website unter **www.neogen.com** oder wenden Sie sich an Ihren lokalen Neogen Verkaufsvertreter oder Händler.

Wie bei allen Testmethoden zur Analyse von Lebensmitteln kann die Testmatrix die Ergebnisse beeinflussen.
Bei der Auswahl einer Testmethode ist zu beachten, dass externe Faktoren wie Probennahme, Testprotokolle, Probenaufbereitung, Handhabung und Labortechnik die Ergebnisse beeinflussen können. Die Lebensmittelprobe selbst kann die Ergebnisse beeinflussen.

Bei der Auswahl der Testmethode oder des Testprodukts obliegt es dem Anwender, eine ausreichende Anzahl an Proben auszuwerten, um zu bestätigen, dass die ausgewählte Testmethode die Kriterien des Anwenders erfüllt.

Ebenso liegt es in der Verantwortung des Anwenders, zu bestätigen, dass die Testmethoden und -ergebnisse den Anforderungen seiner Kunden und Lieferanten entsprechen.

Wie bei allen Testmethoden stellen die mit Neogen Lebensmittelsicherheitsprodukten erhaltenen Ergebnisse keine Garantie für die Qualität der untersuchten Matrizen oder Prozesse dar.

Haftungsbeschränkungen/Beschränkte Rechtsmittel

AUSSER ES WIRD AUSDRÜCKLICH ANDERS IM ABSCHNITT DER HAFTUNGSBESCHRÄNKUNGEN DER VERPACKUNG DES JEWEILIGEN PRODUKTS ANGEGEBEN, LEHNT NEOGEN ALLE AUSDRÜCKLICHEN UND STILLSCHWEIGENDEN GARANTIEN, EINSCHLIESSLICH, JEDOCH NICHT BESCHRÄNKT AUF, DIE GEWÄHRLEISTUNG DER MARKTGÄNGIGKEIT ODER DER EIGNUNG FÜR EINEN BESTIMMTEN ZWECK AB. Sollte sich ein Produkt von Neogen Food Safety als defekt herausstellen, wird es von Neogen oder einem autorisierten Vertragshändler nach eigenem Ermessen ersetzt oder der Kaufpreis zurückerstattet. Gewährleistungsansprüche bestehen nicht. Bei weiteren Fragen wenden Sie sich bitte an Ihren Neogen-Vertreter oder autorisierten Neogen-Händler.

Neogen Haftungsbeschränkungen

NEOGEN HAFTET NICHT FÜR VERLUSTE ODER SCHÄDEN, GANZ GLEICH OB MITTELBARE, UNMITTELBARE, SPEZIELLE, NEBEN- ODER FOLGESCHÄDEN EINSCHLIESSLICH ABER NICHT BESCHRÄNKT AUF ENTGANGENEN GEWINN. In keinem Fall übersteigt die Haftung der Neogen den Kaufpreis des angeblich defekten Produkts.

Lagerung und Entsorgung

Bewahren Sie die Komponenten des Neogen Mollusken Protein ELISA Kits bei 2–8 °C auf. Nicht einfrieren. Bewahren Sie verdünnte Arbeitslösungen wie in Tabelle 1 beschrieben auf.

Die Komponenten des Neogen Mollusken Protein ELISA Kits dürfen nicht nach Ablauf des Verfalldatums verwendet werden. Das Verfalldatum und die Chargennummer sind auf dem äußeren Etikett der Packung angegeben.

Gemäß den geltenden lokalen/regionalen/branchenüblichen Standards und Vorschriften entsorgen.

Bedienungsanleitung

Befolgen Sie alle Anweisungen genau. Andernfalls werden möglicherweise ungenaue Ergebnisse erzielt.

Reagenzvorbereitung

Bringen Sie alle Reagenzien vor Gebrauch auf Umgebungstemperatur (20–25 °C). Verwenden Sie zum Verdünnen und Lagern von Arbeitslösungen saubere Laborutensilien.

a. Neogen Extraktionslösung

Um 1x Extraktionslösung herzustellen, fügen Sie einen Teil Neogen Extraktionslösung (4x) hinzu und verdünnen Sie ihn mit drei Teilen entionisiertem oder destilliertem Wasser. Erwärmen Sie die Extraktionslösung (1x) vor Gebrauch im Wasserbad oder Schüttelinkubator auf 50–60 °C. Für jede Probe werden 4,5 ml 1x Extraktionslösung benötigt.

b. Neogen Verdünnungslösung

Um 1x Verdünnungslösung herzustellen, fügen Sie einen Teil Neogen Verdünner (5x) hinzu und verdünnen Sie ihn mit vier Teilen entionisiertem oder destilliertem Wasser. Für jede Probe werden 4,5 ml 1x Verdünnungslösung benötigt.

c. Neogen Waschlösung

Um 1x Waschlösung herzustellen, fügen Sie einen Teil Neogen Waschlösung (20x) hinzu und verdünnen Sie sie mit 19 Teilen entionisiertem oder destilliertem Wasser. Für jede Neogen ELISA-Mikrotiterplatte werden etwa 2,5 ml 1x Waschlösung benötigt.

Hinweis: Wenn die Neogen Waschlösung (20x) bei 2–8 °C gelagert wird, kann es zur Bildung von Kristallen kommen. Um Kristalle aufzulösen, erwärmen Sie die Neogen Waschlösung (20x) vor der Herstellung der Waschlösung (1x) in einem Wasserbad oder einem Inkubator auf 30 bis 35 °C.

d. Neogen Mollusken HRP-Konjugat

Um 1x Mollusken HRP-Konjugat herzustellen, fügen Sie einen Teil Neogen Mollusken HRP-Konjugat (10x) hinzu und verdünnen Sie es mit 9 Teilen **1x Verdünnungslösung**. Erst kurz vor Gebrauch zubereiten. Für jede Neogen ELISA-Mikrotiterplatte werden 100 µl 1x Mollusken HRP-Konjugat benötigt.

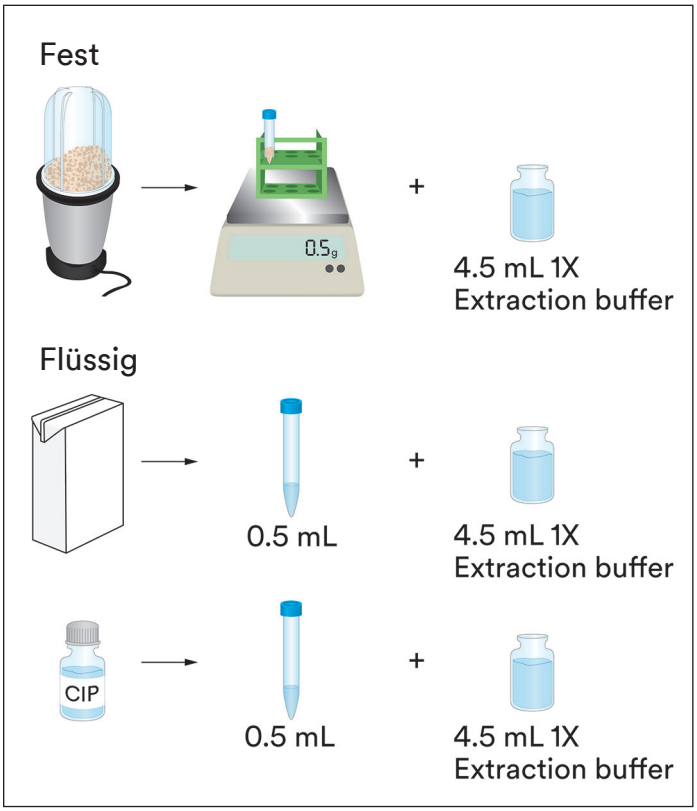
Vorbereiten der Probe

Hinweis: Alle Proben sollten mit 1x Extraktionslösung, die auf 50–60 °C vorgewärmt wurde, extrahiert werden.

1.1 Bereiten Sie die Probe für die Proteinextraktion in einem sauberen Teströhrchen oder einem Einwegröhrchen wie in Tabelle 2 beschrieben vor.

Tabelle 2. Vorbereiten der Probe

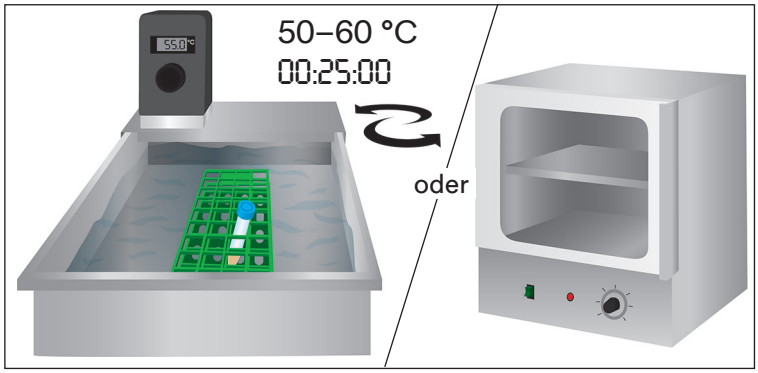
Probenmatrix	Probengröße	Verdünnung (1/10)
Feste Lebensmittel	0,5 ± 0,02 g	Fügen Sie 4,5 ± 0,09 ml vorgewärmte 1x Extraktionslösung hinzu
Flüssige Lebensmittel	0,5 ± 0,01 ml	Fügen Sie 4,5 ± 0,09 ml vorgewärmte 1x Extraktionslösung hinzu
Clean-in-Place-Spülwasser (CIP)	0,5 ± 0,01 ml	Fügen Sie 4,5 ± 0,09 ml vorgewärmte 1x Extraktionslösung hinzu

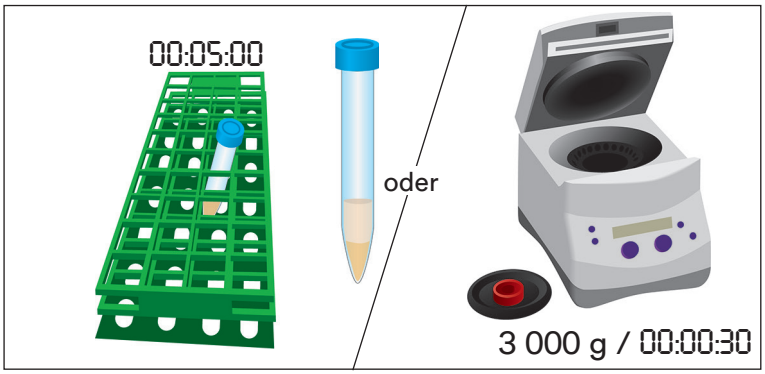


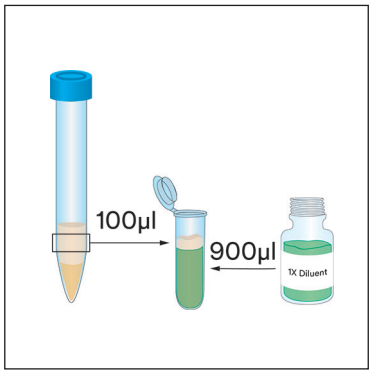
1.2 Inkubieren Sie die verdünnten Proben für 25 ± 1 Minute bei 50–60 °C im Schüttelwasserbad oder Schüttelinkubator. Eine weitere Option wäre es, die Proben in einem Wasserbad oder Inkubator bei 50–60 °C zu lassen und alle 5 Minuten manuell 1 Minute lang zu schütteln.

1.3 Nach der Inkubation werden die Proben für 20 bis 30 Sekunden bei 5000–7000 U/min (3000 x *g*) zentrifugiert, um Partikel zu pelletieren, oder sie ruhen 5 Minuten lang in einem Reagenzglasgestell, damit sich die Partikel absetzen können.

1.4 Entnehmen Sie 100 µl aus der mittleren (wässrigen) Schicht und geben Sie sie zu 900 µl Verdünnungslösung (1x) hinzu. Verwirbeln oder schütteln Sie die Probe, um sie gut zu durchmischen. (Dies entspricht einer 1/100 Verdünnung der ursprünglichen Probe.)







ELISA-Verfahren

2.1 Entnehmen Sie eine Neogen ELISA-Mikrotiterplatte pro Probe und/oder Standardreihe und stellen Sie die Tests in den Mikrotiterplattenhalter. Geben Sie die unbenutzten Neogen ELISA-Mikrotiterplatten in den Folienbeutel zurück, versiegeln Sie ihn erneut und lagern Sie ihn bei 2–8 °C.

2.2 Stellen Sie unter Nutzung des Neogen Mollusken Protein Standardkonzentrats eine vierteilige Standardreihe her, die in Verdünnungslösung (1x) verdünnt ist.

Standardreihennummer	Standardkonzentration (ng/ml)	Volumen des zum 1x Verdünners hinzugefügten Standards	Volumen der 1x Verdünnungslösung
4	270	10 µl Neogen Mollusken Protein Standardkonzentrat	990 µl
3	90	200 µl von Standardreihennummer 4	400 µl
2	30	200 µl von Standardreihennummer 3	400 µl
1	10	200 µl von Standardreihennummer 2	400 µl
0	0	0	400 µl

2.3 Übertragen Sie mit einer Pipette 100 µl aus jeder Standardreihe in die Neogen ELISA-Mikrotiterplatten.

- Standardreihe 0 (1x Verdünnungslösung)
- Standardreihe 1 (10 ng/ml) ppb
- Standardreihe 2 (30 ng/ml) ppb
- Standardreihe 3 (90 ng/ml) ppb
- Standardreihe 4 (270 ng/ml) ppb

2.4 Übertragen Sie mit einer Pipette 100 µl der in 1.4 hergestellten extrahierten Probe in eine Neogen ELISA-Mikrotiterplatte.

2.5 Inkubieren Sie Neogen ELISA-Mikrotiterplatten bei Raumtemperatur (20–25 °C) und 400 U/min für 30 ± 2 Minuten in einem Orbitalschüttler. Halten Sie die Mikrotiterplatten während dieses Schritts bedeckt und waagerecht, um eine Verdunstung zu verhindern.

2.6 Aspirieren Sie nach der Inkubation den Inhalt der Neogen ELISA-Mikrotiterplatten.

2.7 Befüllen Sie jede Neogen ELISA-Mikrotiterplatte vollständig mit 1x Waschlösung und aspirieren Sie sie. Wenn das Waschen manuell durchgeführt wird, drehen Sie die Platte um, schütten Sie den Inhalt in einen Abfallbehälter und klopfen Sie die Mikrotiterplatte kräftig auf absorbierendes Papier, um Waschlösungsreste zu entfernen. Wiederholen Sie diesen Schritt dreimal für insgesamt vier Wäschen.

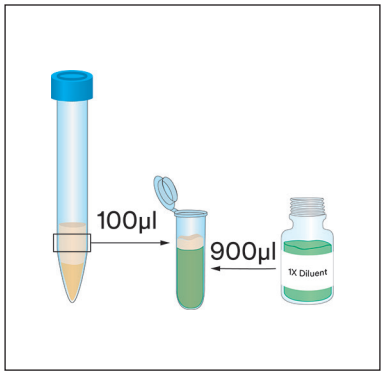
2.8 Übertragen Sie mit einer Pipette 100 µl 1x Mollusken HRP-Konjugat in jede Neogen ELISA-Mikrotiterplatte. Inkubieren Sie sie bei Raumtemperatur und 400 U/min für 10 ± 2 Minuten in einem Orbitalschüttler. Halten Sie die Mikrotiterplatte während dieses Schritts bedeckt und waagerecht.

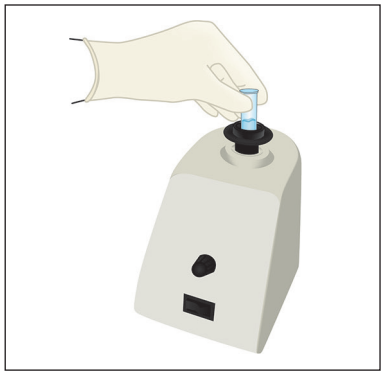
2.9 Wiederholen Sie die Schritte 2.6 und 2.7, um insgesamt vier Waschungen mit Waschlösung (1x) durchzuführen.

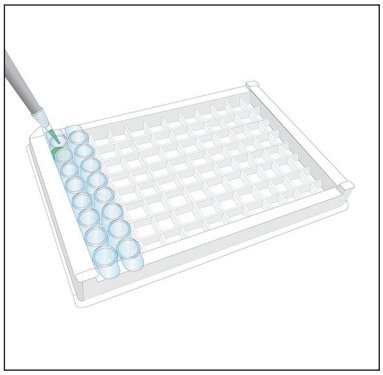
2.10 Übertragen Sie mit einer Pipette 100 µl Neogen chromogene Substratlösung (TMB) in jede Neogen ELISA-Mikrotiterplatte.

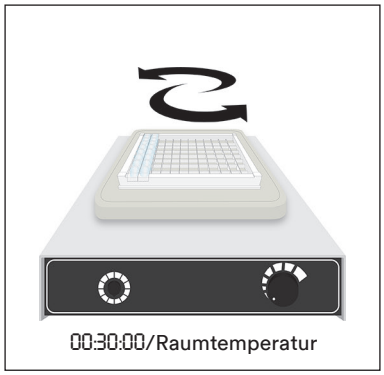
2.11 Inkubieren Sie sie bei Raumtemperatur und 400 U/min für 10 Minuten in einem Orbitalschüttler. Halten Sie die Mikrotiterplatte während dieses Schritts bedeckt und waagerecht.

2.12 Geben Sie nach der Inkubation 100 µl Neogen Stopplösung in jede Neogen ELISA-Mikrotiterplatte und bestimmen Sie innerhalb von 30 Minuten (bei 450 nm) die Extinktion.

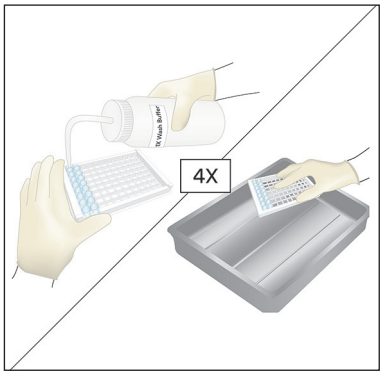


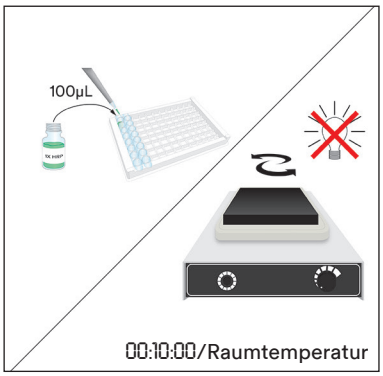




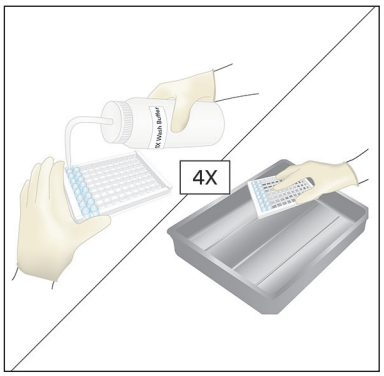


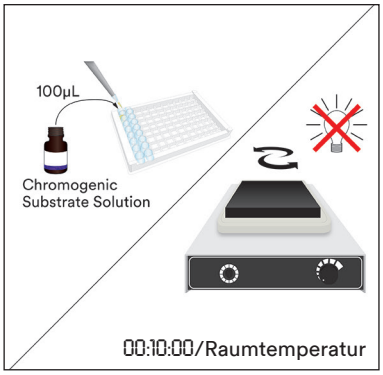


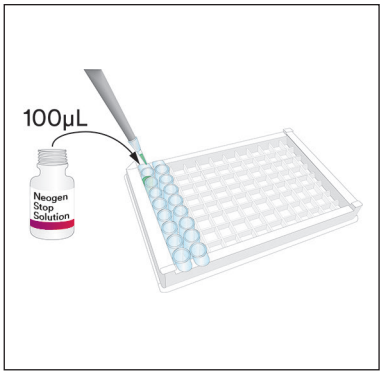


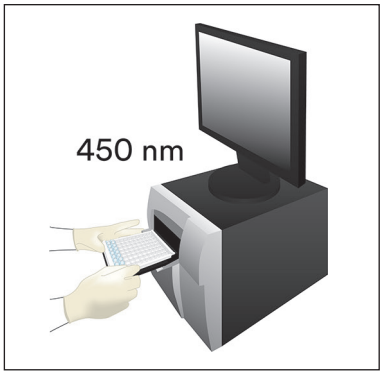












Ergebnisanalyse

3.1 Subtrahieren Sie für jede Probe den durchschnittlichen Hintergrundwert (durchschnittlicher Absorptionswert der Probe minus durchschnittlicher Absorptionswert von Standardnull).

3.2 Mittels einer Computersoftware, die eine logistische Kurvenanpassung mit vier Parametern erzeugen kann, wird die Konzentration in ng/ml (ppb) auf der x-Achse und der Absorptionswert für jede entsprechende Standardreihe auf der y-Achse eingetragen und so eine Standardkurve erstellt. Es können auch ein Polynom zweiten Grades (quadratisch) oder andere Kurvenanpassungen verwendet werden – diese können jedoch nur eine weniger genaue Anpassung der Daten gewährleisten.

3.3 Berechnen Sie die Probenkonzentration außerhalb der Standardkurve. Die Einheit des Ergebnisses ist in ng/ml (ppb). Multiplizieren Sie dieses anschließend mit dem Probenverdünnungsfaktor, um die Konzentration der ursprünglichen Probe zu erhalten. Wenn zum Beispiel die Gesamtverdünnung der Probe 1/100 und die Probenkonzentration der Standardkurve 200 ng/ml (ppb) beträgt, ist die Endkonzentration der Probe 200 ng/ml x 100 = 20.000 ng/ml (ppb), was 20 µg/ml (ppm) ist.

Mindestanforderungen

a. Die analytische Nachweisgrenze liegt bei 7,2 ng/ml (ppb)

Die Nachweisgrenze ist definiert als die niedrigste Konzentration des Allergens in einer Testprobe, die bei einer bestimmten Wahrscheinlichkeit von einer echten Blindprobe unterschieden werden kann.[3] Sie wird durch Addieren von drei Standardabweichungen zum mittleren optischen Dichtewert von achtundvierzig Standard-Null-Wiederholungen und Berechnen der entsprechenden Konzentration bestimmt.

b. Die Bestimmungsgrenze liegt bei 1 ppm

Die Bestimmungsgrenze ist definiert als die niedrigste Konzentration des Allergens in einer Testprobe, die bei einem festgelegten Genauigkeitsgrad quantifiziert werden kann.[3]

Präzision

Intra-Assay-Präzision	Durchschnitt %CV = <10	N=12
Intra-Assay-Präzision	Durchschnitt %CV = <10	N=12

Referenzen

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.

2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.

3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

Erklärung der Symbole

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

NEOGEN

Istruzioni sul prodotto

Kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mollusco

Analisi di immunoassorbimento enzimatico (ELISA) per l'analisi quantitativa delle proteine di mollusco.

Descrizione del prodotto e uso previsto

Il kit ELISA Neogen® per la rilevazione delle proteine di mollusco è indicato per la rilevazione delle proteine di mollusco nell'acqua di risciacquo finale nei processi Clean in Place (CIP), nei campioni di tamponi ambientali, negli ingredienti alimentari e nei prodotti alimentari trattati.

Il kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mollusco Neogen utilizza un ELISA a sandwich. Le proteine di mollusco presenti nel campione reagiscono con l'anticorpo anti-mollusco, il quale è stato assorbito dalla superficie dei pozzetti di microtitolazione in polistirene. In seguito alla rimozione di proteine non legate tramite il lavaggio, vengono aggiunti anticorpi anti-mollusco coniugati a perossidasi del rafano (HRP). Questi anticorpi enzimatici formano complessi con la proteina di mollusco precedentemente legata. In seguito a una seconda fase di lavaggio, l'enzima legato all'immuno-assorbente viene rilevato tramite l'aggiunta di un substrato cromogenico, la 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). Lo sviluppo di colori derivante da questa reazione enzimatica varia a seconda della concentrazione di proteina di mollusco nel campione testato; pertanto, l'assorbanza, a 450 nm, è una misura della concentrazione di proteina di mollusco nel campione di test. La quantità di proteina di mollusco presente nel campione di test può essere estrapolata dalla curva standard, costruita dagli standard della concentrazione nota e regolata al fine di considerare la diluizione del campione.

Il kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mollusco Neogen deve essere utilizzato in laboratorio da professionisti che conoscono le tecniche di laboratorio. Neogen non ha documentato l'utilizzo del presente prodotto in settori diversi da quello alimentare e delle bevande. Ad esempio, Neogen non ha documentato il presente prodotto per l'analisi su campioni di tipo farmaceutico, cosmetico, clinico o veterinario. Il kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mollusco Neogen non è stato valutato con tutti i prodotti alimentari, i processi alimentari e i protocolli di test possibili.

Il kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mollusco Neogen contiene 96 pozzetti, descritti nella Tabella 1.

Tabella 1. Componenti del kit

Articolo	Identificazione	Preparazione (consultare la sezione Preparazione dei reagenti per maggiori dettagli)	Conservazione	Stabilità
Pozzetti ELISA Neogen® per la rilevazione delle proteine di mollusco	Una sacca di alluminio con una piastra di 96 pozzetti rimovibili rivestiti di anticorpi.	Pronto all'uso.	2-8 °C nella sacca di alluminio sigillata con essiccante.	Sacca di alluminio risigillabile contenente essiccante e pozzetti inutilizzati. Conservare a 2-8 °C per mantenere una stabilità adeguata fino alla data di scadenza del kit.
Coniugato HRP di mollusco Neogen® (10X)	Una fiala contenente 1,5 ml di anticorpo coniugato a perossidasi del rafano (HRP) 10X (10X).	Diluire 1/10 appena prima dell'uso per ottenere una soluzione di lavoro 1X.	2-8 °C al riparo dalla luce.	Il coniugato 10X è stabile fino alla data di scadenza del kit.

Concentrato standard di proteine di mollusco Neogen® 	Una fiala contenente una concentrazione di proteina di mollusco nota.	Fare riferimento alla sezione Procedura ELISA per la preparazione standard.	2-8 °C. Non congelare.	Il concentrato standard di proteine di mollusco Neogen è stabile fino alla data di scadenza del kit.
Diluente Neogen® (5X) 	Un flacone contenente 50 ml di diluente 5X.	Diluire 1/5 appena prima dell'uso per ottenere una soluzione di lavoro 1X.	2-8 °C	La soluzione diluente Neogen 5X è stabile fino alla data di scadenza del kit.
Soluzione di lavaggio Neogen® (20X) 	Un flacone contenente 50 ml di soluzione di lavaggio 20X.	Diluire 1/20 per ottenere una soluzione di lavoro 1X.	2-8 °C sia per la soluzione di lavoro 1X sia per il concentrato di soluzione di lavaggio 20X.	La soluzione di lavaggio Neogen 20X è stabile fino alla data di scadenza del kit. La soluzione di lavaggio 1X è stabile per almeno una settimana in seguito alla preparazione.
Tampone di estrazione Neogen® E26 (4X) 	Un flacone contenente 120 ml di tampone di estrazione 4X.	Diluire 1/4 per ottenere una soluzione di lavoro 1X. La soluzione di lavoro dovrà essere riscaldata a 50-60 °C prima dell'uso.	2-8 °C sia per la soluzione di lavoro 1X sia per il concentrato di tampone di estrazione Neogen 4X.	Il tampone di estrazione 1X e il tampone di estrazione Neogen 4X sono stabili fino alla data di scadenza del kit.
Soluzione di substrato cromogenico Neogen® 	Un flacone contenente 12 ml di 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB).	Pronto all'uso.	2-8 °C al riparo dalla luce.	Proteggere dalla luce. La soluzione di substrato cromogenico Neogen è stabile fino alla data di scadenza del kit.
Soluzione di arresto Neogen® 	Un flacone contenente 12 ml di acido solforico 0,3 M.	Pronto all'uso.	2-8 °C	La soluzione di arresto Neogen è stabile fino alla data di scadenza del kit.

Materiali non forniti nel kit:

- Pipette di precisione e puntali per pipetta per raccogliere da 10 a 100 µl
- Provette di test
- Lavatrice/aspiratore della piastra di microtitolazione
- Acqua distillata o deionizzata
- Sistema di lettura per piastre di microtitolazione
- Attrezzature da laboratorio assortite per la preparazione di reagenti e soluzioni tampone
- Timer
- Vortex
- Sistema a bagnomaria a scuotimento o incubatore a scuotimento
- Agitatore orbitale

Sicurezza

L'utente è tenuto a leggere, comprendere e seguire tutte le informazioni per la sicurezza contenute nelle istruzioni relative al kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mollusco Neogen. Conservare le istruzioni di sicurezza per poterle consultare in futuro.

⚠ **AVVERTENZA:** indica una situazione pericolosa che, se non evitata, potrebbe provocare la morte o lesioni gravi e/o danni materiali.

AVVISO: indica una situazione potenzialmente pericolosa che, se non evitata, potrebbe provocare danni materiali.

⚠ AVVERTENZA

Come ridurre i rischi associati all'esposizione a sostanze chimiche:

- Smaltire nel rispetto delle normative e degli standard locali/regionali/nazionali/settoriali attualmente in vigore.
- L'utente è tenuto a formare il proprio personale alle tecniche di test appropriate attuali, come ad esempio le corrette procedure di laboratorio[1] o la norma ISO/IEC 17025[2].
- Durante la manipolazione di reagenti, seguire sempre le pratiche standard di sicurezza di laboratorio, compreso l'utilizzo di abbigliamento protettivo e protezioni appropriate per gli occhi.
- Evitare il contatto cutaneo con la soluzione di arresto Neogen; consultare la scheda di sicurezza per ulteriori informazioni sulla sicurezza.

Per ridurre i rischi associati a risultati falsi negativi che portano all'emissione di un prodotto contaminato:

- Conservare il kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mollusco Neogen come indicato sulla confezione e nelle istruzioni sul prodotto.
- Utilizzare il kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mollusco Neogen per i campioni alimentari e ambientali che sono stati validati internamente o da terzi.
- Attenersi al protocollo ed eseguire i test esattamente come descritto nelle istruzioni sul prodotto.
- Neogen non ha documentato l'utilizzo del kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mollusco Neogen in settori diversi da quello alimentare e delle bevande. Ad esempio, Neogen non ha documentato il presente prodotto per l'analisi su campioni di tipo farmaceutico, cosmetico, clinico o veterinario.

Per ridurre i rischi associati a risultati inaccurati che portano all'emissione di un prodotto contaminato:

- Utilizzare sempre il kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mollusco Neogen entro la data di scadenza.
- Preparare sempre le soluzioni di lavoro utilizzando i reagenti concentrati del kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mollusco Neogen a una temperatura di 20-25 °C.
- Non congelare il concentrato standard di proteine di mollusco Neogen.
- Se la soluzione di substrato cromogenico diventa di colore blu, non utilizzarla. Attenersi alle corrette procedure di laboratorio[1] per evitare la contaminazione crociata della soluzione di substrato cromogenico Neogen.
- I kit per test delle proteine allergeniche Neogen® non sono intesi per il rilevamento di proteine idrolizzate.
- I kit Neogen per il test delle proteine allergeniche sono progettati per rilevare le proteine negli alimenti trasformati una volta che sono stati solubilizzati con il buffer di estrazione Neogen. Alcuni metodi per gli alimenti trasformati potrebbero avere un limite di identificazione di queste proteine bersaglio.
- Alcune lavorazioni alimentari possono influenzare la rilevazione delle proteine alimentari con i kit per il test delle proteine allergeniche Neogen. L'utilizzatore dovrebbe verificare che il metodo utilizzato sia idoneo ai requisiti richiesti.

AVVISO

Per ridurre i rischi associati a risultati non precisi:

- La stabilità dei campioni in seguito alle estrazioni non è stata valutata. La procedura ELISA dovrà essere condotta subito dopo l'estrazione del campione.
- Gestire gli standard di proteine di mollusco Neogen nel rispetto delle corrette procedure di laboratorio[1] al fine di evitare la contaminazione crociata dei campioni.

Per ulteriori informazioni, consultare la scheda di sicurezza.

Per informazioni sulla documentazione delle prestazioni del prodotto, visitare il nostro sito Web all'indirizzo www.neogen.com o contattare il distributore o il rappresentante Neogen di zona.

Responsabilità dell'utente

Gli utenti sono tenuti a leggere e apprendere le istruzioni e le informazioni sul prodotto. Visitare il sito Web **www.neogen.com** o contattare il distributore o rappresentante Neogen di zona per ulteriori informazioni.

Analogamente a tutti i metodi di test utilizzati per le analisi alimentari, la matrice del test può influenzare i risultati. Nella scelta di un metodo di test, è importante tener conto del fatto che fattori esterni quali i metodi di campionamento, i protocolli di test, la preparazione del campione, la manipolazione e le tecniche di laboratorio possono influenzare i risultati. Lo stesso campione alimentare influenza i risultati.

È responsabilità dell'utente scegliere l'eventuale metodo o prodotto di test al fine di valutare un numero sufficiente di campioni e per confermare che il metodo scelto soddisfa i criteri dell'utente.

L'utente ha inoltre la responsabilità di accertarsi che tutti i metodi di analisi utilizzati e i risultati ottenuti soddisfino i requisiti dei propri clienti e fornitori.

Come per qualsiasi metodo di analisi, i risultati ottenuti grazie al prodotto di sicurezza alimentare Neogen non costituiscono una garanzia della qualità delle matrici o dei processi sottoposti a prova.

Limitazione di garanzia/Rimedio limitato

SALVO NEI CASI ESPRESSAMENTE INDICATI IN UNA SEZIONE DI GARANZIA LIMITATA DELLA SINGOLA CONFEZIONE DEL PRODOTTO, NEOGEN NON RICONOSCE ALCUNA GARANZIA ESPLICITA O IMPLICITA, INCLUSE, MA NON A ESSE LIMITATE, LE EVENTUALI GARANZIE DI COMMERCIABILITÀ O DI IDONEITÀ A UNO SCOPO PARTICOLARE. Qualora un prodotto Neogen Sicurezza alimentare sia difettoso, Neogen o il suo distributore autorizzato provvederanno, a loro discrezione, alla sostituzione o al rimborso del prezzo d'acquisto del prodotto. Questi sono gli unici rimedi a disposizione del cliente. Per ulteriori domande, contattare il rappresentante Neogen o il distributore autorizzato Neogen.

Limitazione di responsabilità da parte di Neogen

NEOGEN NON SARÀ RESPONSABILE DI PERDITE O DANNI, DIRETTI, INDIRETTI, SPECIALI, INCIDENTALI O EMERGENTI, INCLUSA, MA NON IN VIA STRETTAMENTE LIMITATIVA, LA PERDITA DI PROFITTO. In nessun caso la responsabilità legale di Neogen andrà oltre il prezzo d'acquisto del prodotto presunto difettoso.

Conservazione e smaltimento

Conservare il contenuto del kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mollusco Neogen a 2-8 °C. Non congelare. Conservare le soluzioni di lavoro diluite come descritto nella Tabella 1.

I componenti del kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mollusco Neogen non devono essere utilizzati oltre la data di scadenza. La data di scadenza e il numero di lotto sono riportati sull'etichetta esterna della scatola.

Smaltire nel rispetto delle normative e degli standard locali/regionali/nazionali/settoriali attualmente in vigore.

Istruzioni per l'uso

Seguire attentamente tutte le istruzioni. In caso contrario, si rischia di ottenere risultati non precisi.

Preparazione dei reagenti

Prima dell'uso, portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (20-25 °C). Utilizzare attrezzature da laboratorio pulite per diluire e conservare le soluzioni di lavoro.

a. Tampone di estrazione Neogen

Per preparare il tampone di estrazione 1X, aggiungere una parte di tampone di estrazione Neogen (4X) e diluirlo in tre parti di acqua deionizzata o distillata. Prima dell'uso, preriscaldare il tampone di estrazione (1X) a 50-60 °C in un sistema a bagnomaria o in un incubatore a scuotimento. Ciascun campione richiede 4,5 ml di tampone di estrazione 1X.

b. Soluzione diluente Neogen

Per preparare la soluzione diluente 1X, aggiungere una parte di diluente Neogen (5X) a quattro parti di acqua deionizzata o distillata. Ciascun campione richiede un totale di 4,5 ml di soluzione diluente 1X.

c. Soluzione di lavaggio Neogen

Per preparare la soluzione di lavaggio 1X, aggiungere una parte di soluzione di lavaggio Neogen (20X) a 19 parti di acqua deionizzata o distillata. Ciascun pozzetto ELISA Neogen richiede circa 2,5 ml di soluzione di lavaggio 1X.

Nota: quando la soluzione di lavaggio Neogen (20X) viene conservata a 2-8 °C, al suo interno potrebbe verificarsi la formazione di cristalli. Per dissolvere i cristalli, riscaldare la soluzione di lavaggio Neogen (20X) a 30-35 °C in un sistema a bagnomaria o in un incubatore prima di preparare la soluzione di lavaggio (1X).

d. Coniugato HRP di mollusco Neogen

Per preparare il coniugato HRP di mollusco 1X, aggiungere una parte di coniugato HRP di mollusco Neogen (10X) e diluirla in 9 parti di **soluzione diluente 1X**. Preparare subito prima dell'uso. Ciascun pozzetto ELISA Neogen richiede 100 µl di coniugato HRP di mollusco 1X.

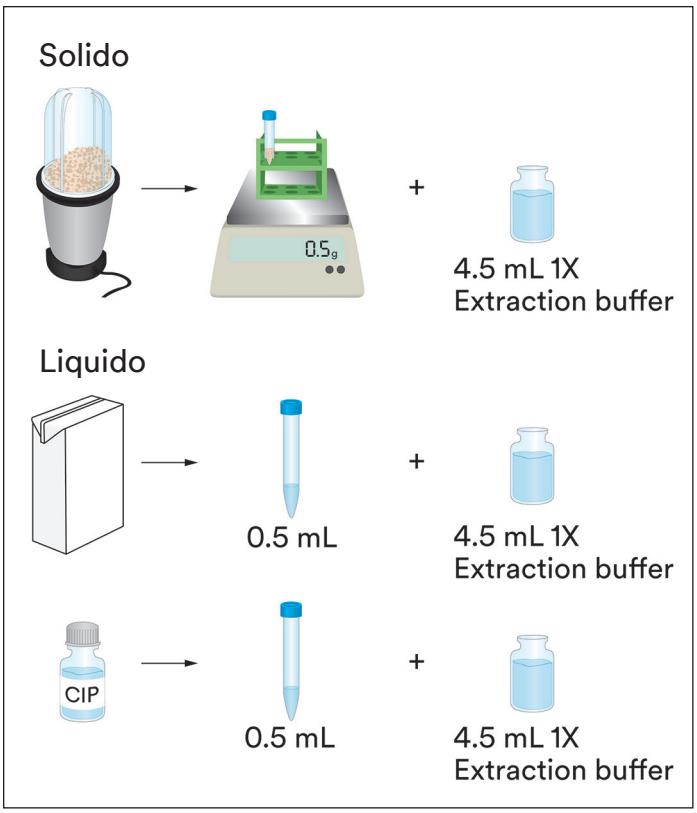
Preparazione del campione

Nota: tutti i campioni devono essere estratti con il tampone di estrazione 1X preriscaldato a 50-60 °C.

1.1 Preparare il campione per l'estrazione delle proteine in una provetta da test pulita o in una provetta monouso, come descritto nella Tabella 2.

Tabella 2. Preparazione del campione

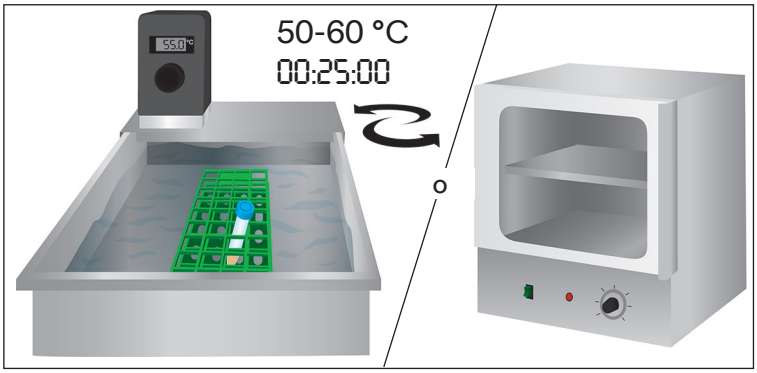
Matrice campione	Dimensione campione	Diluizione (1/10)
Cibi solidi	0,5 ± 0,02 g	Aggiungere 4,5 ± 0,09 ml di tampone di estrazione 1X preriscaldato
Cibi liquidi	0,5 ± 0,01 ml	Aggiungere 4,5 ± 0,09 ml di tampone di estrazione 1X preriscaldato
Acqua di risciacquo finale nei processi Clean in Place (CIP)	0,5 ± 0,01 ml	Aggiungere 4,5 ± 0,09 ml di tampone di estrazione 1X preriscaldato

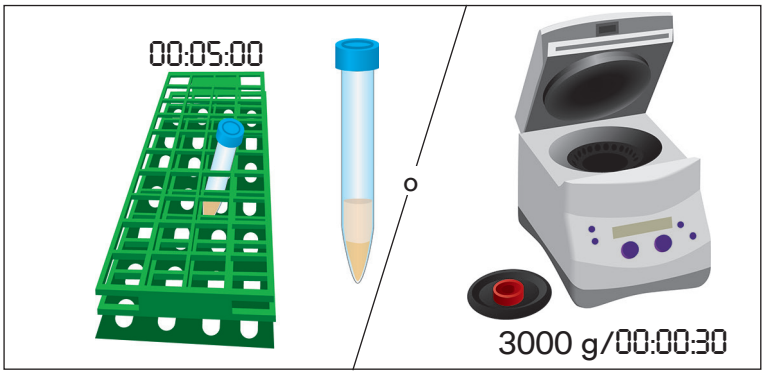


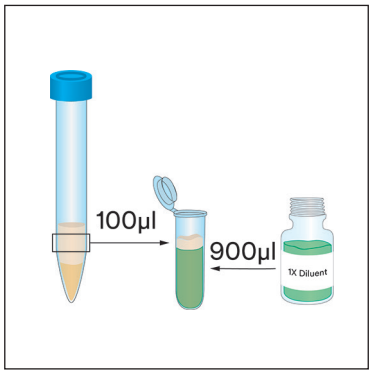
1.2 Incubare i campioni diluiti in un sistema a bagnomaria a scuotimento o in un incubatore a scuotimento a 50-60 °C per 25 ± 1 minuto. In alternativa, è possibile lasciare i campioni in un sistema a bagnomaria o in un incubatore a 50-60 °C e agitarli manualmente per 1 minuto ogni 5 minuti.

1.3 Dopo l'incubazione, centrifugare i campioni a 5000-7000 rpm (3000 x *g*) per 20-30 secondi in particelle circolari o lasciarli riposare per 5 minuti in una rastrelliera di provette da test.

1.4 Raccogliere 100 µl di strato (acquoso) intermedio e aggiungerli a 900 µl di soluzione diluente (1X). Agitare mediante vortex o scuotere per mescolare a fondo (questo processo corrisponde a una diluizione di 1/100 del campione originale).







Procedura ELISA

2.1 Rimuovere un pozzetto ELISA Neogen per campione e/o standard e posizionare i pozzetti nel portapozzetti. Riporre i pozzetti ELISA Neogen nel sacchetto d'alluminio, quindi risigillare quest'ultimo e conservarlo nuovamente a 2-8 °C.

2.2 Utilizzando il concentrato standard di proteine di mollusco Neogen, preparare un set di quattro standard diluiti nella soluzione diluente (1X).

Numero standard	Concentrazione standard (ng/ml)	Volume dello standard aggiunto a diluente 1X	Volume della soluzione diluente 1X
4	270	10 µl del concentrato standard di proteine di mollusco Neogen	990 µl
3	90	200 µl di standard numero 4	400 µl
2	30	200 µl di standard numero 3	400 µl
1	10	200 µl di standard numero 2	400 µl
0	0	0	400 µl

2.3 Pipettare 100 µl di ciascuno standard nei pozzetti ELISA Neogen.

- Standard 0 (soluzione diluente 1X)
- Standard 1 (10 ng/ml) ppb
- Standard 2 (30 ng/ml) ppb
- Standard 3 (90 ng/ml) ppb
- Standard 4 (270 ng/ml) ppb

2.4 Pipettare 100 µl del campione estratto preparato nel passaggio 1.4 in un pozzetto ELISA Neogen.

2.5 Incubare pozzetti ELISA Neogen su un set di agitatori orbitali a 400 rpm a temperatura ambiente (20-25 °C) per 30 ± 2 minuti. Durante questa fase, mantenere i pozzetti coperti e diritti al fine di evitare la relativa evaporazione.

2.6 Dopo l'incubazione, aspirare il contenuto dei pozzetti ELISA Neogen.

2.7 Riempire completamente ciascun pozzetto ELISA Neogen con la soluzione di lavaggio 1X, quindi procedere con l'aspirazione. Se il lavaggio viene eseguito manualmente, invertire la piastra e versare/agitare il relativo contenuto in un contenitore per rifiuti, quindi sbattere energicamente i pozzetti su un panno di carta assorbente al fine di rimuovere la soluzione di lavaggio residua. Ripetere questo passaggio per tre volte per un totale di quattro lavaggi.

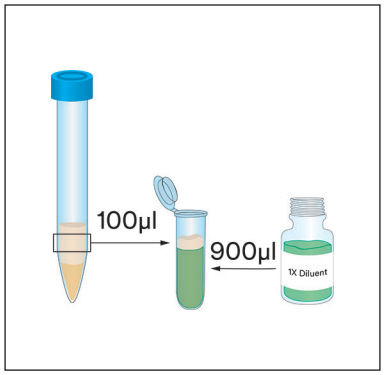
2.8 Pipettare 100 µl di coniugato HRP di mollusco 1X in ciascun pozzetto ELISA Neogen. Incubare su un set di agitatori orbitali a 400 rpm a temperatura ambiente per 10 ± 2 minuti. Durante questa fase, mantenere la piastra coperta al riparo dalla luce e in posizione diritta.

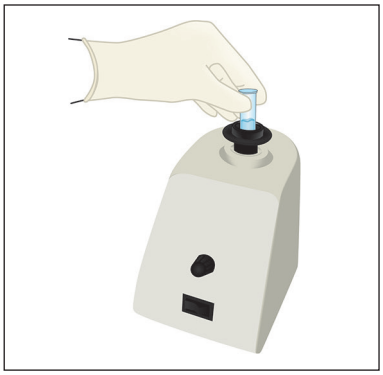
2.9 Ripetere i passaggi 2.6 e 2.7 per completare un totale di quattro lavaggi con la soluzione di lavaggio (1X).

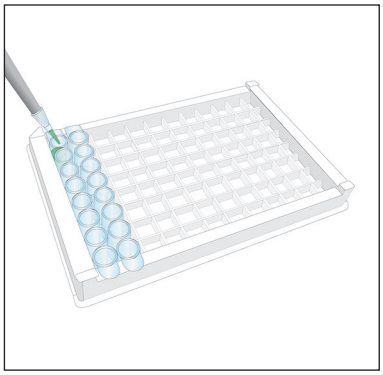
2.10 Pipettare 100 µl di soluzione di substrato cromogenico Neogen (TMB) in ciascun pozzetto ELISA Neogen.

2.11 Incubare su un set di agitatori orbitali a 400 rpm a temperatura ambiente per 10 minuti. Durante questa fase, mantenere la piastra coperta al riparo dalla luce e in posizione diritta.

2.12 Dopo l'incubazione, aggiungere 100 µl di soluzione di arresto Neogen a ciascun pozzetto ELISA Neogen e determinare l'assorbanza (a 450 nm) nell'arco di 30 minuti.

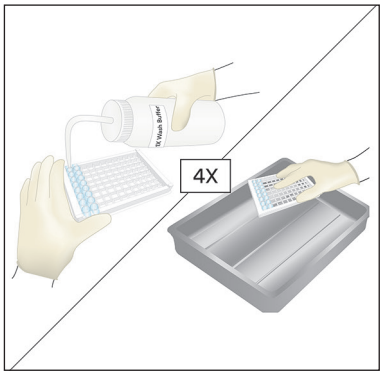


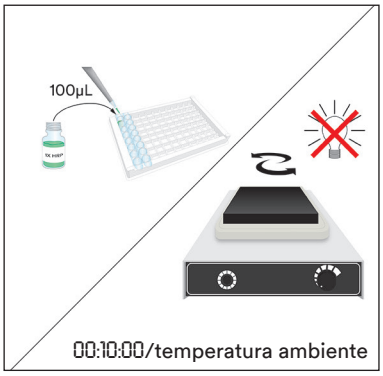




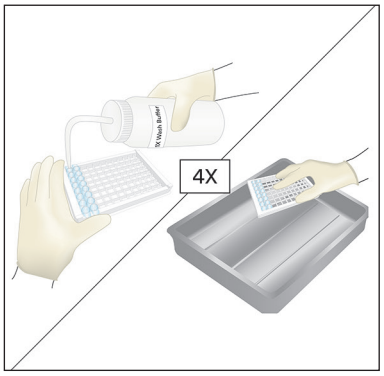


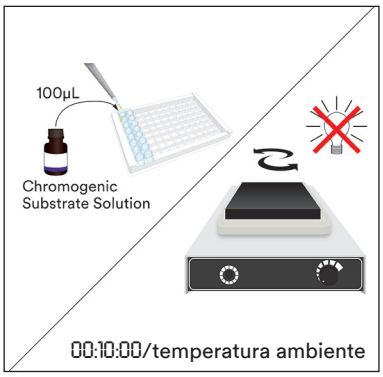


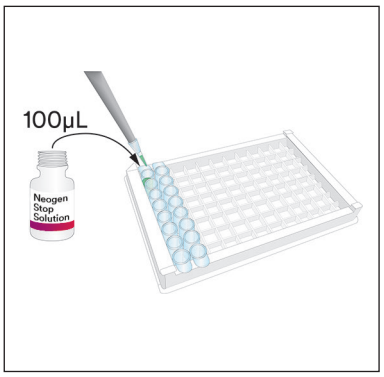


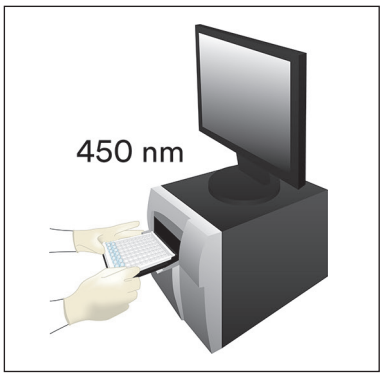












Analisi dei risultati

3.1 Sottrarre il valore di fondo medio per ciascun campione (la lettura dell'assorbanza media del campione meno la lettura dell'assorbanza media dello zero standard).

3.2 Utilizzando un software per computer in grado di generare una curva di compensazione logistica a quattro parametri, costruire una curva standard scrivendo la concentrazione in ng/ml (ppb) sull'asse x e la lettura dell'assorbanza su ognuno degli standard corrispondenti sull'asse y. È inoltre possibile utilizzare accoppiamenti polinomiali (quadratici) di secondo ordine o altre curve di compensazione; tuttavia, essi forniranno una rappresentazione dei dati meno precisa.

3.3 Calcolare le concentrazioni del campione a partire dalla curva standard; l'unità risultante sarà espressa in ng/ml (ppb). Quindi, moltiplicare per il fattore di diluizione del campione al fine di ottenere la concentrazione del campione originale. Se, ad esempio, la diluizione totale del campione è 1/100 e la concentrazione del campione sulla curva standard è 200 ng/ml (ppb), la concentrazione del campione finale sarà 200 ng/ml x 100 = 20.000 ng/ml (ppb), ossia 20 µg/ml (ppm).

Caratteristiche minime di funzionamento

a. Il limite di rilevazione (LOD) analitico è 7,2 ng/ml (ppb)

Il limite di rilevazione è definito come la concentrazione minima dell'allergene in un campione di test che può essere distinto da un campione vuoto a un livello di probabilità specificato[3]. Esso è determinato aggiungendo tre deviazioni standard al valore di densità ottica medio di quarantotto replicati zero standard e calcolando la concentrazione corrispondente.

b. Il limite di quantificazione (LOQ) è 1 ppm

Il limite di quantificazione è definito come il livello minimo dell'allergene in un campione di test che può essere ragionevolmente quantificato a un livello di precisione specificato[3].

Precisione

Precisione nell'ambito dello stesso dosaggio	% di CV media = <10	N=12
Precisione tra un dosaggio e l'altro	% di CV media = <10	N=12

Bibliografia

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.

2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.

3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

Legenda dei simboli

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

NEOGEN®

Instrucciones del Producto

Kit ELISA para Proteína de Moluscos

Análisis de inmunoabsorción enzimática (ELISA) para el análisis cuantitativo de las proteínas de moluscos.

Descripción del producto y uso previsto

El Kit ELISA para Proteína de Moluscos Neogen® está diseñado para la detección de proteínas de moluscos en el agua de lavado final del sistema cerrado de limpieza (CIP, por sus siglas en inglés), las muestras de hisopado ambiental, ingredientes para producir alimentos y productos alimenticios procesados.

El Kit ELISA para Proteína de Moluscos Neogen usa una prueba ELISA sándwich. Las proteínas de moluscos presentes en la muestra reaccionan con el anticuerpo anti-moluscos, que se ha absorbido en la superficie de los pocillos de microtitulación de poliestireno. Después de remover las proteínas libres mediante lavado, se añaden los anticuerpos anti-moluscos conjugados con peroxidasa de rábano (HRP, por sus siglas en inglés). Estos anticuerpos marcados con enzimas forman complejos con la proteína de moluscos previamente unida. Después de un segundo paso de lavado, la enzima unida al inmunoabsorbente se detecta mediante la adición de un sustrato cromogénico, 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB, por sus siglas en inglés). El desarrollo de color de esta reacción enzimática varía directamente con la concentración de proteína de moluscos en la muestra analizada. Por consiguiente, la absorbancia, a 450 nm, indica la concentración de proteína de moluscos en la muestra de prueba. La cantidad de proteína de moluscos en la muestra de prueba se puede extrapolar a partir de la curva estándar, construida a partir de soluciones estándar de concentración conocida y se ajusta para considerar la dilución de la muestra.

El Kit ELISA para Proteína de Moluscos Neogen está previsto para su uso en laboratorios por profesionales capacitados en el empleo de técnicas de laboratorio. Neogen no documentó el uso de este producto en otras industrias que no sean la alimentaria o la de bebidas. Por ejemplo, Neogen no documentó este producto para el análisis de muestras clínicas, veterinarias, cosméticas o farmacéuticas. No se evaluó el Kit ELISA para Proteína de Moluscos Neogen con todos los posibles productos alimenticios, procesos de alimentos y protocolos de prueba.

El Kit ELISA para Proteína de Moluscos Neogen contiene 96 pocillos descritos en la Tabla 1.

Tabla 1. Componentes del kit

Artículo	Identificación	Preparación (consulte la sección Preparación de Reactivos para obtener información detallada)	Almacenamiento	Estabilidad
Pocillos del Kit ELISA para Proteína de Moluscos Neogen®	Una bolsa metálica con una placa de 96 pocillos removibles revestidos con anticuerpos.	Listo para usar.	A una temperatura de entre 2 °C y 8 °C en una bolsa metálica sellada con desecante.	Vuelva a sellar la bolsa metálica con los pocillos sin utilizar y el desecante. Almacene entre 2 °C y 8 °C para mantener la estabilidad hasta la fecha de vencimiento del kit.
Neogen® Conjugado de Moluscos HRP (10X)	Un vial con 1,5 mL de anticuerpo conjugado (10X) de peroxidasa de rábano (HRP) 10X.	Diluya en una proporción de 1/10 inmediatamente antes de usar para preparar una solución de trabajo 1X.	A una temperatura de entre 2 °C y 8 °C en la oscuridad.	El conjugado 10X es estable hasta la fecha de vencimiento del kit.

Concentrado Estándar de Proteína de Moluscos Neogen® 	Un vial con una concentración conocida de proteína de moluscos.	Consulte la Sección del Procedimiento ELISA para conocer la preparación estándar.	A una temperatura de entre 2 °C y 8 °C. No congelar.	El concentrado Estándar de Proteína de Moluscos Neogen es estable hasta la fecha de vencimiento del kit.
Neogen® Diluyente (5X) 	Un frasco con 50 mL de Diluyente 5X.	Diluya en una proporción de 1/5 inmediatamente antes de usar para preparar una solución de trabajo 1X.	A una temperatura de entre 2 °C y 8 °C	La Neogen Solución Diluyente 5X es estable hasta la fecha de vencimiento del kit.
Solución de Lavado Neogen® (20X) 	Un frasco con 50 mL de Solución de Lavado 20X.	Diluya 1/20 para preparar una solución de trabajo 1X.	A una temperatura de entre 2 °C y 8 °C tanto para la solución de trabajo 1X como para el concentrado de la Solución de Lavado 20X.	La Solución de Lavado Neogen 20X es estable hasta la fecha de vencimiento del kit. La Solución de Lavado 1X es estable durante al menos una semana desde la preparación.
Neogen® Solución Amortiguadora de Extracción E26 (4X) 	Un frasco con 120 mL de solución amortiguadora de extracción 4X.	Diluya 1/4 para preparar una solución de trabajo 1X. La solución de trabajo se debe calentar hasta 50 °C o 60 °C antes de su uso.	Almacene tanto para la solución de trabajo 1X como el concentrado de la Neogen Solución Amortiguadora de Extracción 4X a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C.	La Solución Amortiguadora de Extracción 1X y la Neogen Solución Amortiguadora de Extracción 4X son estables hasta la fecha de vencimiento del kit.
Neogen® Solución de Sustrato Cromogénico 	Un frasco con 12 mL de 3,3’,5,5’-tetrametilbenzidina (TMB).	Listo para usar.	A una temperatura de entre 2 °C y 8 °C en la oscuridad.	Proteja de la luz. La Neogen Solución de Sustrato Cromogénico es estable hasta la fecha de vencimiento del kit.
Neogen® Solución de Paro 	Un frasco de 12 mL de ácido sulfúrico 0.3 M.	Listo para usar.	A una temperatura de entre 2 °C y 8 °C	La Neogen Solución de Paro es estable hasta la fecha de vencimiento del kit.

Materiales no incluidos en el kit:

- Pipetas de precisión y boquillas de la pipeta para recolectar entre 10 y 100 µL
- Tubos de ensayo
- Lavadora/aspiradora para la placa de microtitulación
- Agua destilada o desionizada
- Lector de placas de microtitulación
- Elementos de laboratorio varios para la preparación de reactivos y soluciones amortiguadoras

- Temporizador
- Agitador mecánico
- Baño de agua con agitación o incubadora con agitación
- Agitadora orbital

Seguridad

El usuario debe leer, comprender y respetar toda la información de seguridad que se incluye en las instrucciones del Kit ELISA para Proteína de Moluscos Neogen. Guarde las instrucciones de seguridad como referencia en el futuro.

⚠ **ADVERTENCIA:** Indica una situación peligrosa que, si no se evita, podría ocasionar la muerte o lesiones graves, y/o daños materiales.

ATENCIÓN: Indica una situación potencialmente peligrosa que, si no se evita, podría ocasionar daños materiales.

⚠ ADVERTENCIA

Para reducir los riesgos asociados con la exposición a productos químicos:

- Deseche según las normas y regulaciones locales, regionales, nacionales o industriales actuales.
- El usuario debe capacitar al personal en las técnicas de prueba actuales adecuadas; por ejemplo, las Buenas Prácticas de Laboratorio[1] o la norma ISO/IEC 17025[2].
- Siempre siga las prácticas de seguridad estándar de laboratorio, incluso el uso de la vestimenta protectora adecuada y de la protección ocular mientras manipule reactivos.
- Evite que la Neogen Solución de Paro tenga contacto con la piel, consulte la Hoja de Datos de Seguridad para conocer información de seguridad adicional.

Para reducir los riesgos asociados con los resultados falso negativos que conduzcan a la liberación del producto contaminado:

- Almacene el Kit ELISA para Proteína de Moluscos Neogen como se indica en el embalaje y en las instrucciones del producto.
- Use el Kit ELISA para Proteína de Moluscos Neogen con muestras ambientales y de alimentos validadas internamente o por un tercero.
- Siga el protocolo y realice las pruebas exactamente como se indica en las instrucciones del producto.
- Neogen no documentó el uso del Kit ELISA para Proteína de Moluscos Neogen en otras industrias que no sean la alimentaria o la de bebidas. Por ejemplo, Neogen no documentó este producto para el análisis de muestras clínicas, veterinarias, cosméticas o farmacéuticas.

Para reducir los riesgos asociados con los resultados incorrectos que conduzcan a la liberación del producto contaminado:

- Siempre use el Kit ELISA para Proteína de Moluscos Neogen antes de la fecha de vencimiento.
- Siempre prepare las soluciones de trabajo usando los reactivos concentrados del Kit ELISA para Proteína de Moluscos Neogen a una temperatura entre 20 °C y 25 °C.
- No congele el Concentrado Estándar de Proteína de Moluscos Neogen.
- Si la Solución de Sustrato Cromogénico se vuelve azul, no la use. Siga las Buenas Prácticas de Laboratorio[1] para evitar la contaminación cruzada de la Neogen Solución de Sustrato Cromogénico.
- Los Neogen® Kits para Proteínas Alergénicas no están destinados para la detección de proteínas hidrolizadas.
- Los Neogen Kits para Proteínas Alergénicas están diseñados para detectar proteínas de alimentos procesados una vez que han sido solubilizadas en la Neogen Solución Amortiguadora de Extracción. Ciertos métodos de procesamiento podrían limitar la detección de las proteínas a detectar.
- Algunos procesos de producción de alimentos podrían afectar la detección de proteína de alimentos con los Neogen Kits para Proteínas Alergénicas. Los usuarios de éste kit deben verificar que el método es apto para el propósito y que cumple con los requerimientos del usuario.

ATENCIÓN

Para reducir los riesgos relacionados con resultados incorrectos:

- No se ha evaluado la estabilidad de la muestra después de las extracciones. El procedimiento ELISA se debe realizar inmediatamente después de la extracción de la muestra.

- Manipule los Estándares de Proteína de Moluscos Neogen siguiendo las Buenas Prácticas de Laboratorio[1] para evitar la contaminación cruzada de las muestras.

Consulte la Hoja de Datos de Seguridad para obtener más información.

Si desea obtener información sobre la documentación del desempeño del producto, visite nuestro sitio web en www.neogen.com o comuníquese con su representante o distribuidor local de Neogen.

Responsabilidad del usuario

Los usuarios son responsables de familiarizarse con las instrucciones e información del producto. Visite nuestro sitio web en **www.neogen.com** o póngase en contacto con su representante o distribuidor local de Neogen para obtener más información.

Como sucede con todos los métodos utilizados para el análisis de alimentos, la matriz de prueba puede influir en los resultados. Al seleccionar un método de prueba, es importante reconocer que factores externos tales como los métodos de muestreo, los protocolos de prueba, la preparación de la muestra, la manipulación y la técnica de laboratorio pueden afectar los resultados. La muestra de alimentos en sí misma puede influir en los resultados.

Es responsabilidad del usuario seleccionar cualquier método o producto de prueba para evaluar un número de muestras suficientes que satisfagan al usuario respecto a que el método de prueba elegido cumple con los criterios del usuario.

Además, es responsabilidad del usuario determinar que cualquier método de prueba y sus resultados cumplen con los requisitos de sus clientes y proveedores.

Como sucede con cualquier método de prueba, los resultados obtenidos del uso de cualquier producto de Neogen Food Safety no constituyen una garantía de calidad de las matrices ni de los procesos analizados.

Limitación de garantías/recursos legales limitados

SALVO LO EXPRESAMENTE ESTIPULADO EN UNA SECCIÓN DE GARANTÍA LIMITADA O EN EL EMBALAJE DE UN PRODUCTO ESPECÍFICO, NEOGEN RENUNCIA A TODAS LAS GARANTÍAS EXPRESAS Y TÁCITAS INCLUIDA, ENTRE OTRAS, CUALQUIER GARANTÍA DE COMERCIABILIDAD O IDONEIDAD PARA UN USO EN PARTICULAR. Si un producto de Neogen Food Safety es defectuoso, Neogen o su distribuidor autorizado reemplazará el producto o reembolsará el precio de compra del producto, a su elección. Estos son sus recursos exclusivos. Póngase en contacto con su representante de Neogen o distribuidor autorizado de Neogen para que se le responda cualquier otra pregunta.

Limitación de la responsabilidad de Neogen

NEOGEN NO SERÁ RESPONSABLE DE NINGUNA PÉRDIDA O DAÑO, YA SEA DIRECTO, INDIRECTO, ESPECIAL, DAÑOS ACCIDENTALES O CONSECUENCIAS, INCLUIDOS ENTRE OTROS, LA PÉRDIDA DE BENEFICIOS. En ningún caso la responsabilidad de Neogen conforme a ninguna teoría legal excederá el precio de compra del producto supuestamente defectuoso.

Almacenamiento y desecho

Almacene todos los componentes del Kit ELISA para Proteína de Moluscos Neogen a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C. No congelar. Almacene las soluciones de trabajo diluidas como se describe en la Tabla 1.

Los componentes del Kit ELISA para Proteína de Moluscos Neogen no se deben usar después de su fecha de vencimiento. La fecha de vencimiento y el número de lote están impresos en la etiqueta externa de la caja.

Deseche según las normas y regulaciones locales, regionales, nacionales o industriales actuales.

Instrucciones de uso

Siga todas las instrucciones atentamente. De lo contrario, los resultados obtenidos podrían llegar a ser incorrectos.

Preparación de los reactivos

Lleve todos los reactivos a temperatura ambiente (entre 20 °C y 25 °C) antes de su uso. Use elementos de laboratorio limpios para diluir y almacenar las soluciones de trabajo.

a. Neogen Solución Amortiguadora de Extracción

Para preparar una Solución Amortiguadora de Extracción 1X, añada una parte de Neogen Solución Amortiguadora de Extracción (4X) y dilúyala en tres partes de agua desionizada o destilada. Precaliente la Solución Amortiguadora de Extracción (1X) a una temperatura de entre 50 °C y 60 °C en un baño de agua o en una incubadora con agitación antes de su uso. Cada muestra requiere 4.5 mL de Solución Amortiguadora de Extracción 1X.

b. Neogen Solución Diluyente

Para preparar una Solución Diluyente 1X, añada una parte de Neogen Diluyente (5X) a cuatro partes de agua desionizada o destilada. Cada muestra requiere un total de 4.5 mL de Solución Diluyente 1X.

c. Solución de Lavado Neogen

Para preparar una Solución de Lavado 1X, añada una parte de Solución de Lavado Neogen (20X) a 19 partes de agua desionizada o destilada. Cada pocillo Neogen ELISA requiere aproximadamente 2.5 mL de Solución de Lavado 1X.

Nota: Se puede producir la formación de cristales en la Solución de Lavado Neogen (20X) cuando se la almacena a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C. Para disolver los cristales, caliente la Solución de Lavado Neogen (20X) a una temperatura de entre 30 °C y 35 °C en un baño de agua o incubadora antes de preparar la Solución de Lavado (1X).

d. Neogen Conjugado de Moluscos HRP

Para preparar el Conjugado de Moluscos HRP 1X, añada una parte del Conjugado de Moluscos HRP Neogen (10X) y dilúyalo en 9 partes de la **Solución Diluyente 1X**. Prepárelos inmediatamente antes de su uso. Cada Pocillo ELISA Neogen requiere 100 µL de Conjugado de Moluscos HRP 1X.

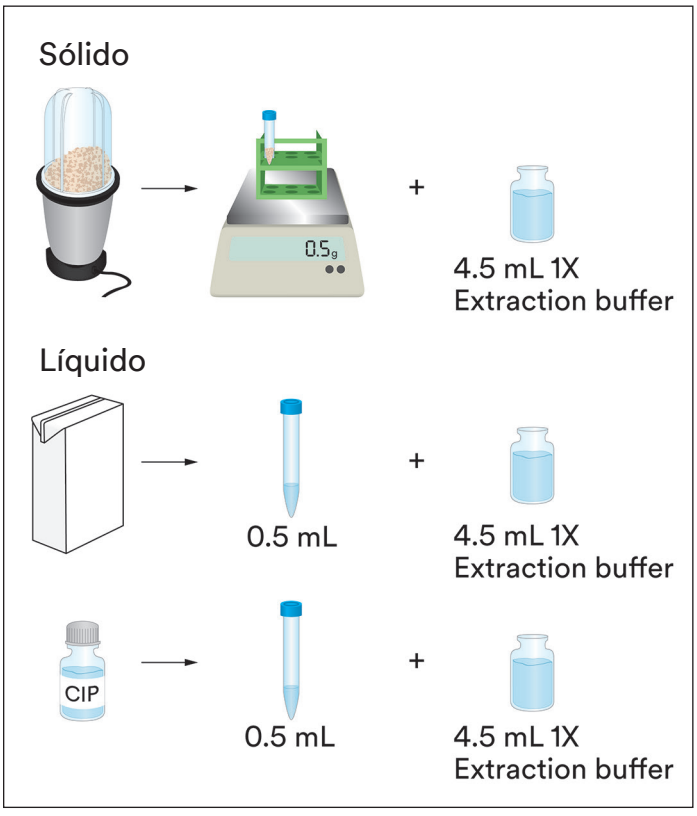
Preparación de la Muestra

Nota: Todas las muestras se deben extraer con Solución Amortiguadora de Extracción 1X precalentada a una temperatura de entre 50 °C y 60 °C.

1.1 Prepare la muestra para la extracción de proteína en un tubo de ensayo limpio o en un tubo desechable, como se describe en la Tabla 2.

Tabla 2. Preparación de la muestra

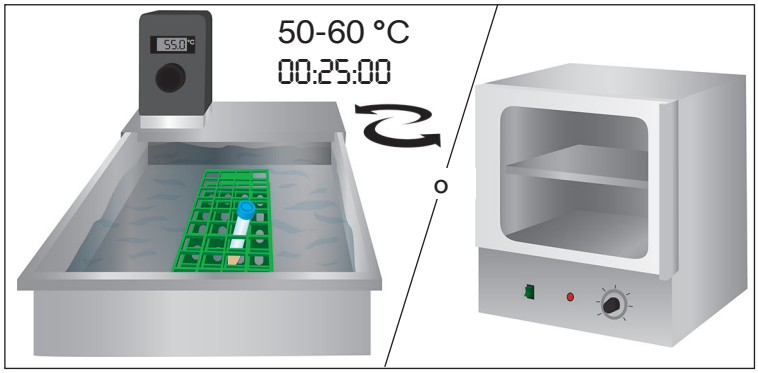
Matriz de la muestra	Tamaño de la muestra	Dilución (1/10)
Alimentos sólidos	0.5 g ± 0.02 g	Añada 4.5 mL ± 0.09 mL de Solución Amortiguadora de Extracción 1X precalentada
Alimentos líquidos	0.5 mL ± 0.01 mL	Añada 4.5 mL ± 0.09 mL de Solución Amortiguadora de Extracción 1X precalentada
Agua de lavado final de la limpieza in situ (CIP)	0.5 mL ± 0.01 mL	Añada 4.5 mL ± 0.09 mL de Solución Amortiguadora de Extracción 1X precalentada

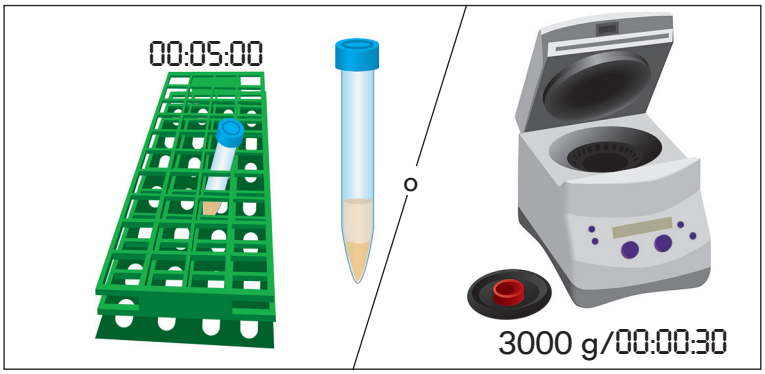


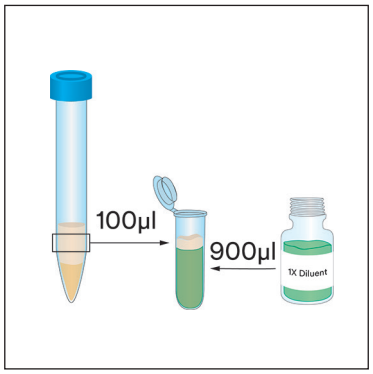
1.2 Incube las muestras diluidas en un baño de agua con agitación o en una incubadora con agitación a una temperatura de entre 50 °C y 60 °C durante 25 minutos ± 1 minuto. Otra opción es dejar las muestras en un baño de agua o incubadora a una temperatura de entre 50 °C y 60 °C y agitarlas manualmente durante 1 minuto cada 5 minutos.

1.3 Después de la incubación, centrifugue las muestras a entre 5000 rpm y 7000 rpm (3000 x *g*) durante 20 o 30 segundos para disolver las partículas, o permita que se asienten durante 5 minutos en un soporte para tubos de ensayo.

1.4 Tome 100 µL de la capa media (acuosa) y añádalos a 900 µL de la Solución Diluyente (1X). Use un generador de vórtice o agite para mezclarlo bien. (Esto corresponde a una dilución 1/100 de la muestra original).







Procedimiento ELISA

2.1 Retire un Pocillo Neogen ELISA por muestra o estándar y coloque los pocillos en el soporte. Vuelva a colocar los Pocillos Neogen ELISA que no fueron utilizados en la bolsa metálica, vuelva a sellarla y guárdela a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C.

2.2 Utilizando el Concentrado Estándar para Proteína de Moluscos Neogen, prepare un conjunto de cuatro estándares diluidos en la Solución Diluyente (1X).

Número del Estándar	Concentración del Estándar (ng/mL)	Volumen del estándar agregado al Diluyente 1X	Volumen de la solución Diluyente 1X
4	270	10 µL del Concentrado Estándar de Proteína de Moluscos Neogen	990 µL
3	90	200 µL del estándar número 4	400 µL
2	30	200 µL del estándar número 3	400 µL
1	10	200 µL del estándar número 2	400 µL
0	0	0	400 µL

2.3 Pipetee 100 µL de cada estándar en Pocillos Neogen ELISA.

- Estándar 0 (Solución Diluyente 1X)
- Estándar 1 (10 ng/mL) ppb
- Estándar 2 (30 ng/mL) ppb
- Estándar 3 (90 ng/mL) ppb
- Estándar 4 (270 ng/mL) ppb

2.4 Pipetee 100 µL de la muestra extraída preparada en 1.4 en un Pocillo Neogen ELISA.

2.5 Incube los pocillos Neogen ELISA en un agitador orbital configurado a 400 rpm a temperatura ambiente (entre 20 °C y 25 °C) durante 30 minutos ± 2 minutos. Mantenga los pocillos cubiertos y nivelados durante este paso para evitar la evaporación.

2.6 Después de la incubación, aspire el contenido de los Pocillos Neogen ELISA.

2.7 Llene por completo cada Pocillo Neogen ELISA con Solución de Lavado 1X y aspírela. Si el lavado se hace manualmente, invierta la placa y viértala/agítela para extraer el contenido en un recipiente para desechos y dele un golpe seco a los pocillos contra papel absorbente para eliminar la solución de lavado residual. Repita este paso tres veces para completar un total de cuatro lavados.

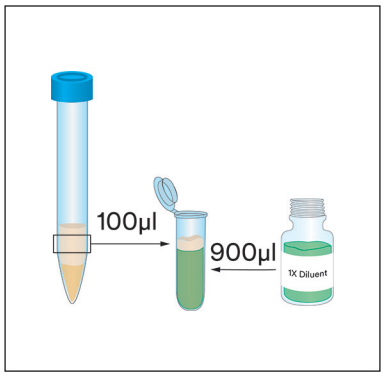
2.8 Pipetee 100 µL de Conjugado de Moluscos HRP 1X en cada Pocillo Neogen ELISA. Incube en un agitador orbital configurado a 400 rpm a temperatura ambiente durante 10 minutos ± 2 minutos. Durante este paso, conserve la placa cubierta en la oscuridad y nivelada.

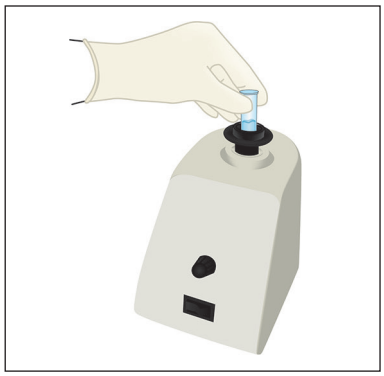
2.9 Repita los pasos 2.6 y 2.7 para completar un total de cuatro lavados con la Solución de Lavado (1X).

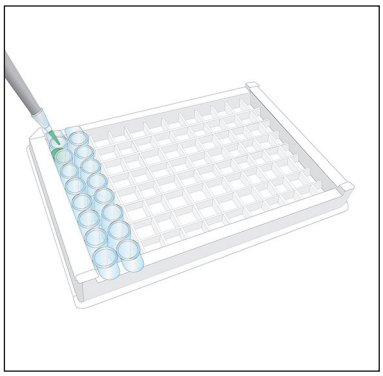
2.10 Pipetee 100 µL de la Solución de Sustrato Cromogénico Neogen (TMB) en cada Pocillo Neogen ELISA.

2.11 Incube en un agitador orbital configurado a 400 rpm a temperatura ambiente durante 10 minutos. Durante este paso, conserve la placa cubierta en la oscuridad y nivelada.

2.12 Después de la incubación, añada 100 µL de la Neogen Solución de Paro en cada Pocillo Neogen ELISA y determine la absorbancia (a 450 nm) en un plazo de 30 minutos.

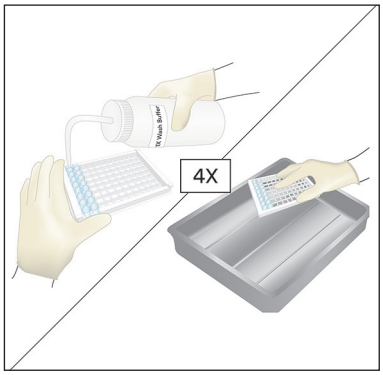


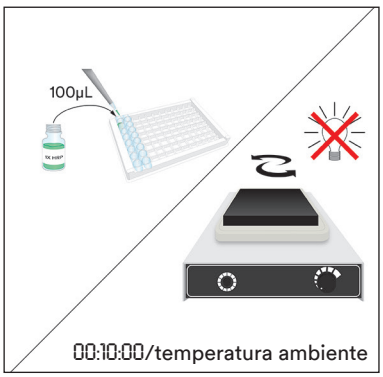




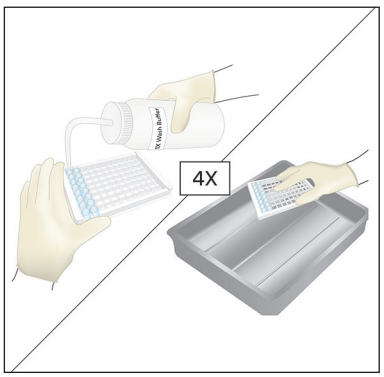


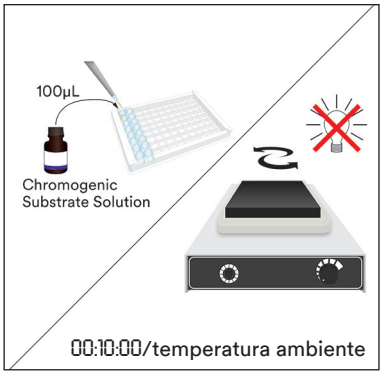


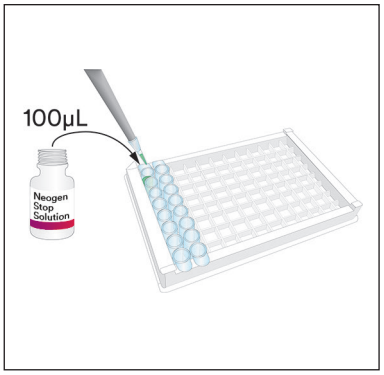


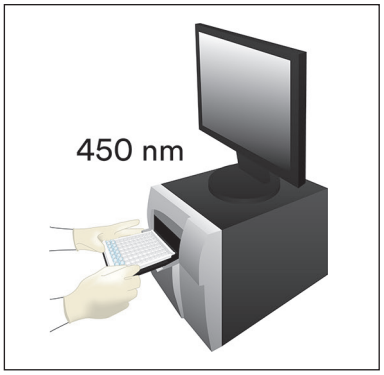












Análisis del Resultado

3.1 Reste el valor de fondo promedio para cada muestra. (Lectura promedio de absorbancia de la muestra menos la lectura de absorbancia promedio del estándar cero).

3.2 Usado un software informático capaz de generar un ajuste curvilíneo logístico de cuatro parámetros, trace una curva estándar representando la concentración en ng/mL (ppb) en el eje X y la lectura de absorbancia para cada estándar correspondiente en el eje Y. También se podría utilizar un ajuste curvilíneo polinómico de segundo orden (cuadrático) o de otro tipo. Sin embargo, sería un ajuste menos preciso de los datos.

3.3 Calcule las concentraciones de la muestra de la curva estándar; la unidad resultante es ng/mL (ppb). Luego, multiplíquelo por el factor de dilución de la muestra para obtener la concentración de la muestra original. Por ejemplo, si la dilución total de la muestra es 1/100 y la concentración de muestra de la curva estándar es 200 ng/mL (ppb), la concentración final de la muestra es 200 ng/mL x 100 = 20 000 ng/mL (ppb) que es 20 µg/mL (ppm).

Características mínimas de rendimiento

a. El Límite de Detección (LOD, por sus siglas en inglés) analítica es de 7.2 ng/mL (ppb).

Se define el límite de detección como la menor concentración del alérgeno en una muestra de prueba que se pueda distinguir de una verdadera muestra en blanco en un nivel de probabilidad especificado[3]. Se lo determina añadiendo tres desviaciones estándar al valor medio de la densidad óptica de cuarenta y ocho duplicados de estándar cero y calcular la concentración correspondiente.

b. El Límite de Cuantificación (LOQ, por sus siglas en inglés) es 1 ppm.

Se define el límite de cuantificación como el menor nivel del alérgeno en una muestra de prueba que se pueda cuantificar razonablemente con un nivel de precisión especificado[3].

Precisión

Precisión dentro del ensayo	Promedio %CV = <10	N=12
Precisión entre ensayos	Promedio %CV = <10	N=12

Referencias

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.

2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.

3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

Explicación de los símbolos

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

NEOGEN

Productinstructies

Schelpdieren Proteïne ELISA test

Enzymgekoppeld immunosorbent-assay (ELISA) voor de kwantitatieve analyse van schelpdierenproteïne.

Productbeschrijving en beoogd gebruik

De Neogen® Schelpdieren Proteïne ELISA test is bedoeld voor de detectie van schelpdierenproteïne in CIP-water ('clean-in-place') van de laatste spoeling, omgevingsmonsters, voedingsingrediënten en verwerkte voedingsmiddelen.

De Neogen Schelpdieren Proteïne ELISA test maakt gebruik van een sandwich-ELISA. De aanwezige schelpdierenproteïne in het monster reageert met het anti-schelpdieren antilichaam, dat geadsorbeerd is aan het oppervlak van wells in een polystyreen microtiterplaat. Nadat ongebonden proteïne is verwijderd door middel van wassen, worden anti-schelpdieren antilichamen geconjugeerd met mierikswortelperoxidase (HRP – 'horseradish peroxidase') toegevoegd. Deze met enzymen gelabelde antilichamen vormen complexen met de eerder gebonden schelpdierenproteïne. Na een tweede wasstap wordt het enzym dat is gebonden aan het immunosorbent gedetecteerd door middel van het toevoegen van een chromogene substraat, 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB). De kleurontwikkeling van deze enzymatische reactie staat in direct verband met de concentratie van schelpdierenproteïne in het geteste monster; daarom is de absorptie, bij 450 nm, een meting voor de concentratie van schelpdierenproteïne in het testmonster. De kwantiteit van schelpdierenproteïne in het testmonster kan geëxtrapoleerd worden van de standaardcurve die is samengesteld met behulp van standaarden van bekende concentraties en is aangepast aan de verdunning van het monster.

De Neogen Schelpdieren Proteïne ELISA test is bedoeld voor gebruik in een laboratoriumomgeving door professionals geschoold in laboratoriumtechnieken. Neogen heeft het gebruik van dit product niet gedocumenteerd in andere sectoren dan de voedings- of dranksector. Neogen heeft dit product bijvoorbeeld niet gedocumenteerd voor farmaceutische, cosmetische, klinische of veterinaire monsters. De Neogen Schelpdieren Proteïne ELISA test is niet getest met alle voorkomende voedingsproducten, voedingsprocessen en testprotocollen.

De Neogen Schelpdieren Proteïne ELISA test bevat 96 wells, die zijn beschreven in Tabel 1.

Tabel 1. Setonderdelen

Artikel	Identificatie	Voorbereiding (raadpleeg het onderdeel 'De reagentia voorbereiden' voor details)	Opslag	Stabiliteit
Neogen® Schelpdieren Proteïne ELISA wells	Een foliezakje met een plaat van 96 verwijderbare wells gecoat met antilichaam.	Klaar voor gebruik.	2-8 °C in verzegelde foliezak met droogmiddel.	Hersluit de foliezak met de ongebruikte wells en droogmiddel. Bewaar de set bij 2-8 °C om de stabiliteit te behouden tot de vervaldatum.
Neogen® Schelpdieren HRP-conjugaat (10X)	Een ampul met 1,5 ml met 10X antilichamen geconjugeerd met HRP (mierikswortelperoxidase) (10X).	Verdun voorafgaand aan gebruik onmiddellijk 1/10 om een 1X werkzame oplossing te maken.	2-8 °C in het donker.	Het 10X conjugaat is stabiel tot de vervaldatum van de set.

Neogen® Schelpdieren Proteïne Standaardconcentraat 	Een ampul met schelpdierenproteïne waarvan de concentratie bekend is.	Raadpleeg het onderdeel 'ELISA-procedure' voor de standaard voorbereiding.	2-8 °C. Niet invriezen.	Neogen Schelpdieren Proteïne Standaardconcentraat is stabiel tot de vervaldatum van de set.
Neogen® Verdunningsmiddel (5X) 	Eén flesje van 50 ml met 5X verdunningsmiddel.	Verdun voorafgaand aan gebruik onmiddellijk 1/5 om een 1X werkzame oplossing te maken.	2-8 °C	De 5X Neogen Verdunningsoplossing is stabiel tot de vervaldatum van de set.
Neogen® Wasoplossing (20X) 	Eén flesje van 50 ml met 20X wasoplossing.	Verdun 1/20 om een 1X werkzame oplossing te maken.	2-8 °C voor zowel 1X werkzame oplossing als 20X wasoplossingsconcentraat.	De 20X Neogen Wasoplossing is stabiel tot de vervaldatum van de set. De 1X wasoplossing is na bereiding minimaal een week stabiel.
Neogen® Extractiebuffer E26 (4X) 	Eén flesje van 120 ml met 4X extractiebuffer.	Verdun 1/4 om een 1X werkzame oplossing te maken. De werkzame oplossing moet voorafgaand aan gebruik worden verhit tot 50-60 °C.	2-8 °C voor 1X werkzame oplossing en 4X Neogen Extractiebuffer-concentraat.	De 1X extractiebuffer en 4X Neogen Extractiebuffer zijn stabiel tot de vervaldatum van de set.
Neogen® Chromogene substraatoplossing 	Eén flesje van 12 ml met 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB).	Klaar voor gebruik.	2-8 °C in het donker.	Bescherm tegen licht. De Neogen Chromogene substraatoplossing is stabiel tot de vervaldatum van de set.
Neogen® Stopoplossing 	Eén flesje van 12 ml met 0,3 M zwavelzuur.	Klaar voor gebruik.	2-8 °C	De Neogen Stopoplossing is stabiel tot de vervaldatum van de set.

Materialen die niet in de set worden geleverd:

- precisiepipetten en pipettips om 10 tot 100 µl te verzamelen
- testbuisjes
- was-/aspiratiemachine voor de microtiterplaat
- gedestilleerd of gedeïoniseerd water
- aflezer voor de microtiterplaat
- diverse laboratoriumproducten voor de bereiding van reagentia en bufferoplossingen
- timer
- vortexmenger
- schudwaterbad of schudincubator
- orbitale schudmachine

Veiligheid

De gebruiker dient alle veiligheidsinformatie in de instructies voor de Neogen Schelpdieren Proteïne ELISA test te lezen, te begrijpen en op te volgen. Bewaar de veiligheidsinstructies om deze later te kunnen raadplegen.

⚠ **WAARSCHUWING:** geeft een gevaarlijke situatie aan die, indien deze niet wordt vermeden, de dood, ernstig letsel en/of materiële schade tot gevolg kan hebben.

OPMERKING: geeft een mogelijk gevaarlijke situatie aan die, als ze niet vermeden wordt, kan resulteren in materiële schade.

⚠ WAARSCHUWING

Om de risico's van blootstelling aan chemicaliën te verminderen:

- Afvoeren volgens de huidige plaatselijke/regionale/nationale/industriële standaarden en regelgevingen.
- De gebruiker moet zijn personeel scholen in de huidige juiste testtechnieken; bijvoorbeeld, Goede laboratoriumpraktijken[1] of ISO/IEC 17025[2].
- Volg altijd de standaard veiligheidsvoorschriften voor laboratoria op, waaronder het dragen van toepasselijke beschermende kleding en oogbescherming bij het hanteren van reagentia.
- Vermijd contact van de huid met de Neogen Stopoplossing, raadpleeg het veiligheidsinformatieblad voor aanvullende informatie.

Om de risico's te beperken die verbonden zijn aan foutieve negatieve resultaten die kunnen leiden tot de vrijgave van besmet product:

- Bewaar de Neogen Schelpdieren Proteïne ELISA test zoals aangegeven wordt op de verpakking en in de productinstructies.
- Gebruik de Neogen Schelpdieren Proteïne ELISA test voor voedings- en omgevingsmonsters die intern of door een derde partij zijn gevalideerd.
- Volg het protocol en voer de testen exact uit zoals aangegeven in de productinstructies.
- Neogen heeft het gebruik van de Neogen Schelpdieren Proteïne ELISA test niet gedocumenteerd in andere sectoren dan de voedings- en drankensector. Neogen heeft dit product bijvoorbeeld niet gedocumenteerd voor farmaceutische, cosmetische, klinische of veterinaire monsters.

Om de risico's van onjuiste resultaten die tot de vrijlating van besmet product leiden te verminderen, doet u het volgende:

- Gebruik de Neogen Schelpdieren Proteïne ELISA test altijd vóór de vervaldatum.
- Bereid de werkzame oplossingen met behulp van de geconcentreerde reagentia van de Neogen Schelpdieren Proteïne ELISA test altijd bij een temperatuur van 20-25 °C.
- Vries het Neogen Schelpdieren Proteïne Standaardconcentraat niet in.
- Gebruik de chromogene substraatoplossing niet als deze blauw kleurt. Volg de Goede laboratoriumpraktijken[1] om kruisbesmetting van de Neogen Chromogene substraatoplossing te voorkomen.
- Neogen® Allergeen eiwit testkits zijn niet bedoeld voor de detectie van gehydrolyseerde eiwitten.
- De Neogen Allergene Proteïne Testkits zijn ontworpen om eiwitten uit bewerkte voedingsmiddelen te detecteren zodra ze in Neogen extractiebuffer zijn gesolubleerd. Sommige voedselverwerkingsmethoden kunnen de detectie van deze doeleiwitten beperken.
- Bepaalde bewerkingen van levensmiddelen kunnen van invloed zijn op de detectie van voedseleiwitten met Neogen Allergen Protein Test Kits. Gebruikers moeten nagaan of de methode geschikt is om aan de eisen van de gebruiker te voldoen.

OPMERKING

Beperk de risico's van onjuiste resultaten op de volgende wijze:

- De stabiliteit van de monsters na extractie is niet geëvalueerd. De ELISA-procedure moet direct na extractie van het monster worden uitgevoerd.
- Hanteer de Neogen Schelpdieren Proteïne Standaarden volgens Goede laboratoriumpraktijken[1] om kruisbesmetting van monsters te voorkomen.

Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad voor aanvullende informatie.

Voor informatie over documentatie van productprestaties kunt u onze website op www.neogen.com bezoeken of contact opnemen met uw plaatselijke Neogen-vertegenwoordiger of -distributeur.

Verantwoordelijkheid van de gebruiker

Gebruikers worden geacht zich vertrouwd te maken met de productinstructies en -informatie. Bezoek onze website **www.neogen.com** of neem contact op met uw plaatselijke Neogen-vertegenwoordiger of -distributeur voor meer informatie.

Zoals met alle testmethodes die worden gebruikt voor voedselanalyse, kan de testmatrix invloed hebben op de resultaten. Bij het kiezen van een testmethode is het belangrijk om te erkennen dat externe factoren zoals proefmethoden, testprotocollen, proefvoorbereiding en -behandeling en laboratoriumtechniek invloed kunnen hebben op de resultaten. Het voedselmonster kan de resultaten beïnvloeden.

Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker dat hij/zij voldoende monsters beoordeelt om zich er van te verzekeren dat de gekozen testmethode voldoet aan de criteria van de gebruiker.

Het is ook de verantwoordelijkheid van de gebruiker om te bepalen of testmethoden en resultaten aan de vereisten van klanten en leveranciers voldoen.

Zoals bij elke testmethode, garanderen de verkregen resultaten van het gebruik van een Neogen Food Safety-product de kwaliteit van de geteste matrices of processen niet.

Garantiebeperkingen/Beperkte Oplossing

BEHALVE WAAR UITDRUKKELIJK VERMELD IN EEN BEPERKTE GARANTIEBEPALING VAN EEN INDIVIDUELE PRODUCTVERPAKKING, WIJST NEOGEN ALLE UITDRUKKELIJKE EN IMPLICIETE GARANTIES AF, MET INBEGRIP VAN, MAAR NIET BEPERKT TOT, ELKE GARANTIE MET BETREKKING TOT DE GOEDE WERKING EN DE GESCHIKTHEID VOOR EEN BEPAALD DOEL. Als een Neogen Voedselveiligheidproduct gebrekkig is, zal Neogen of zijn gevolmachtigde distributeur naar eigen keuze het product vervangen of de aankoopprijs van het product terugbetalen. Dit is het enige rechtsmiddel waarover u beschikt. Neem contact op met uw Neogen-vertegenwoordiger of erkende Neogen-distributeur voor verdere vragen.

Beperking van Neogen-aansprakelijkheid

NEOGEN IS NIET AANSPRAKELIJK VOOR ENIG VERLIES OF SCHADE, ONGEACHT OF HET GAAT OM RECHTSTREEKSE, ONRECHTSTREEKSE, SPECIALE, INCIDENTELE OF GEVOLGSCHADE, MET INBEGRIP VAN, MAAR NIET BEPERKT TOT WINSTDERVING. In geen geval zal de wettelijke aansprakelijkheid van Neogen onder om het even welke juridische theorie de aankoopprijs van het zogenaamd gebrekkige product overschrijden.

Opslag en afvalverwerking

Bewaar de inhoud van de Neogen Schelpdieren Proteïne ELISA test bij 2-8°C. Niet invriezen. Bewaar verdunde werkzame oplossingen zoals beschreven in Tabel 1.

De onderdelen van de Neogen Schelpdieren Proteïne ELISA test mogen niet worden gebruikt na de vervaldatum. De vervaldatum en het partijnummer zijn terug te vinden op het etiket aan de buitenzijde van de doos.

Afvoeren volgens de huidige plaatselijke/regionale/nationale/industriële standaarden en regelgevingen.

Gebruiksaanwijzingen

Volg alle instructies zorgvuldig op. Het niet opvolgen van de instructies kan onnauwkeurige resultaten tot gevolg hebben.

De reagentia voorbereiden

Laat alle reagentia voorafgaand aan gebruik op omgevingstemperatuur komen (20-25 °C). Gebruik schone laboratoriumproducten om werkzame oplossingen te verdunnen en te bewaren.

a. Neogen Extractiebuffer

Om de 1X extractiebuffer te bereiden, voegt u één deel van de Neogen Extractiebuffer (4X) toe aan drie delen gedeïoniseerd of gedestilleerd water om te verdunnen. Verwarm voorafgaand aan gebruik de extractiebuffer (1X) voor tot 50-60 °C in een waterbad of schudincubator. Elk monster vereist 4,5 ml van de 1X extractiebuffer.

b. Neogen Verdunningsoplossing

Om de 1X verdunningsoplossing te bereiden, voegt u één deel van het Neogen Verdunningsmiddel (5X) toe aan vier delen gedeïoniseerd of gedestilleerd water. Elk monster vereist in totaal 4,5 ml van het 1X verdunningsmiddel.

c. Neogen Wasoplossing

Om de 1X wasoplossing te bereiden, voegt u één deel van het Neogen Wasoplossing (20X) toe aan 19 delen gedeïoniseerd of gedestilleerd water. Elke Neogen ELISA well vereist ongeveer 2,5 ml 1X wasoplossing.

Opmerking: Wanneer de Neogen Wasoplossing (20X) wordt opgeslagen bij 2-8 °C is het mogelijk dat zich kristallen vormen in de oplossing. Om kristallen op te lossen verwarmt u de Neogen Wasoplossing (20X) tot 30-35 °C in een waterbad of incubator voorafgaand aan de bereiding van de wasoplossing (1X).

d. Neogen Schelpdieren HRP-conjugaat

Om het 1X Schelpdieren HRP-conjugaat te bereiden, voegt u één deel van het Neogen Schelpdieren HRP-conjugaat (10X) toe aan 9 delen van de **1X verdunningsoplossing**. Bereid deze oplossing onmiddellijk voor gebruik. Elke Neogen ELISA well vereist 100 µl van het 1X Schelpdieren HRP-conjugaat.

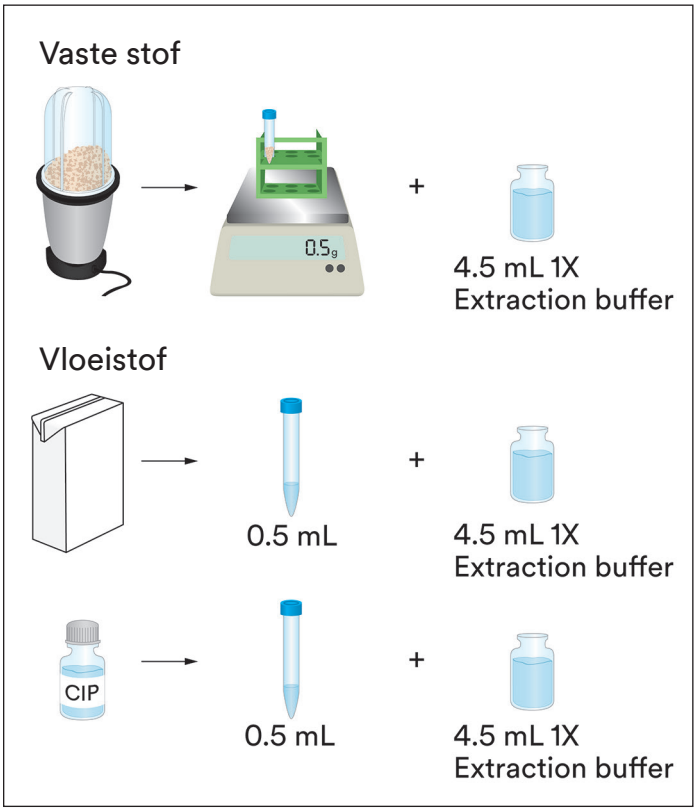
Voorbereiding monster

Opmerking: Alle monsters moeten worden geëxtraheerd met 1X extractiebuffer voorverwarmd tot 50-60 °C.

1.1 Bereid het monster voor proteïne-extractie in een schoon testbuisje of wegwerpbuisje zoals beschreven in Tabel 2.

Tabel 2. Voorbereiding monster

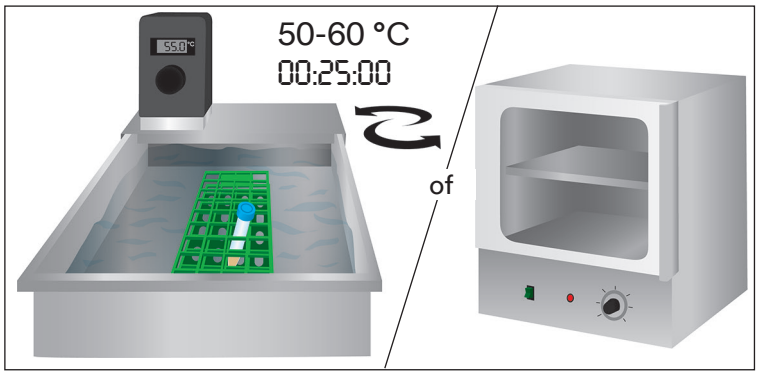
Monstermatrix	Monstergrootte	Verdunning (1/10)
Vaste voedingsmiddelen	0,5 ± 0,02 g	Voeg 4,5 ± 0,09 ml voorverwarmde 1X extractiebuffer toe
Vloeibare voedingsmiddelen	0,5 ± 0,01 ml	Voeg 4,5 ± 0,09 ml voorverwarmde 1X extractiebuffer toe
CIP-water ('clean-in-place') van de laatste spoeling	0,5 ± 0,01 ml	Voeg 4,5 ± 0,09 ml voorverwarmde 1X extractiebuffer toe

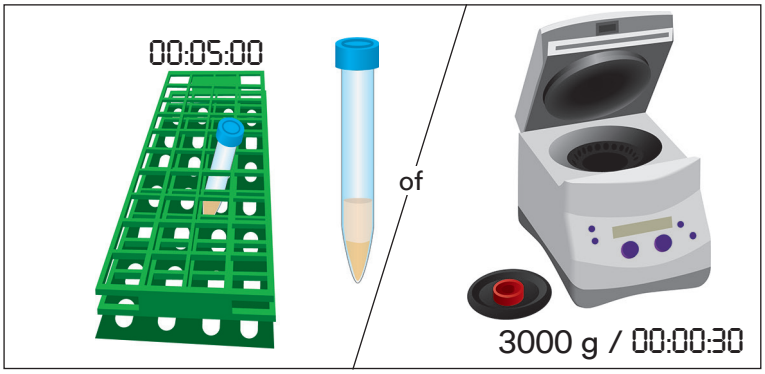


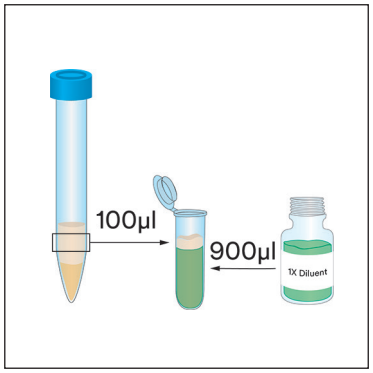
1.2 Incubeer de monsters 25 ± 1 minuut lang in een schudwaterbad of schudincubator bij 50-60 °C. Een andere optie is de monsters in een waterbad of incubator van 50-60 °C plaatsen en elke 5 minuten gedurende 1 minuut handmatig schudden.

1.3 Centrifugeer de monsters 20 tot 30 seconden bij 5000-7000 rpm (3000 x *g*) na incubatie om deeltjes te pelletiseren of laat de monsters 5 minuten in een testbuisrek bezinken.

1.4 Verzamel 100 µl vanuit de middelste (waterige) laag en voeg dit toe aan 900 µl verdunningsoplossing (1X). Meng de oplossing goed door middel van schudden of mengen in de vortexmenger. (Dit correspondeert met een 1/100 verdunning van het originele monster.)







ELISA-procedure

2.1 Verwijder één Neogen ELISA well per monster en/of standaard en plaats de wells in de daarvoor geschikte houder. Plaats de ongebruikte Neogen ELISA wells terug in de foliezak, hersluit de zak en plaats deze terug in opslag bij 2-8 °C.

2.2 Bereid met behulp van het Neogen Schelpdieren Proteïne Standaardconcentraat een set van vier standaarden verdund in verdunningsoplossing (1X).

Nummer standaard	Concentratie standaard (ng/ml)	Volume van standaard toegevoegd aan 1X verdunningsmiddel	Volume van 1X verdunningsoplossing
4	270	10 µl Neogen Schelpdieren Proteïne Standaardconcentraat	990 µl
3	90	200 µl van standaard nummer 4	400 µl
2	30	200 µl van standaard nummer 3	400 µl
1	10	200 µl van standaard nummer 2	400 µl
0	0	0	400 µl

2.3 Pipetteer 100 µl van elke standaard in Neogen ELISA wells.

- Standaard 0 (1X Verdunningsoplossing)
- Standaard 1 (10 ng/ml) ppb
- Standaard 2 (30 ng/ml) ppb
- Standaard 3 (90 ng/ml) ppb
- Standaard 4 (270 ng/ml) ppb

2.4 Pipetteer 100 µl van het monster dat is geëxtraheerd in stap 1.4 in een Neogen ELISA well.

2.5 Incubeer Neogen ELISA wells 30 ± 2 minuten in een orbitale schudmachine ingesteld op 400 rpm op omgevingstemperatuur (20-25 °C). Voorkom verdamping door de wells afgedekt en horizontaal te houden tijdens deze stap.

2.6 Aspireer de inhoud van de Neogen ELISA wells na de incubatie.

2.7 Vul elke Neogen ELISA well volledig met 1X wasoplossing en aspireer deze daarna. Indien het wassen handmatig wordt uitgevoerd, draai de plaat om en giet/schud de inhoud leeg in een afvalcontainer. Sla de wells krachtig op absorberend papier om resterende wasoplossing te verwijderen. Herhaal deze stap drie keer om in totaal vier wasbeurten te voltooien.

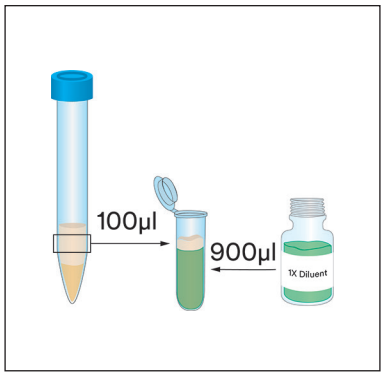
2.8 Pipetteer 100 µl 1X Schelpdieren HRP-conjugaat in elke Neogen ELISA well. Incubeer 10 ± 2 minuten in een orbitale schudmachine ingesteld op 400 rpm op omgevingstemperatuur. Houd de plaat tijdens deze stap afgedekt in het donker en horizontaal.

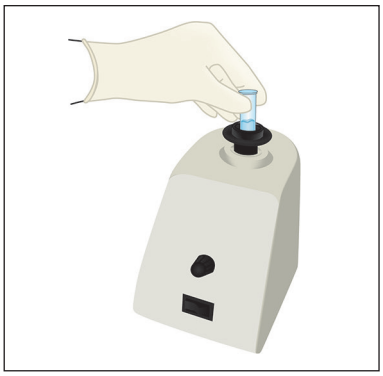
2.9 Herhaal stappen 2.6 en 2.7 om in totaal vier wasbeurten te voltooien met wasoplossing (1X).

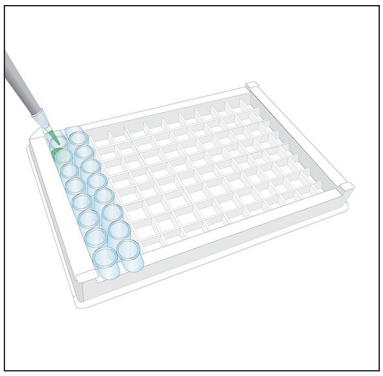
2.10 Pipetteer 100 µl Neogen Chromogene substraatoplossing (TMB) in elke Neogen ELISA well.

2.11 Incubeer 10 minuten in een orbitale schudmachine ingesteld op 400 rpm op omgevingstemperatuur. Houd de plaat tijdens deze stap afgedekt in het donker en horizontaal.

2.12 Voeg na de incubatie 100 µl Neogen Stopoplossing toe aan elke Neogen ELISA well en bepaal de absorptie (bij 450 nm) binnen 30 minuten.

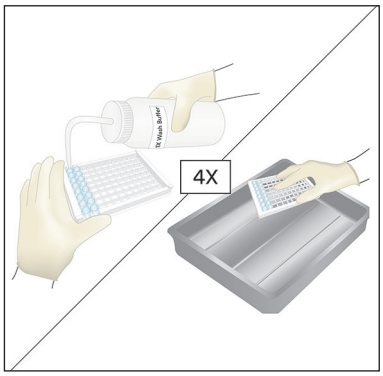


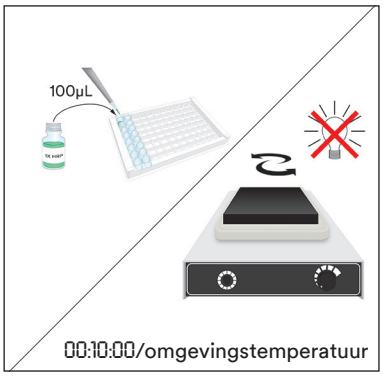




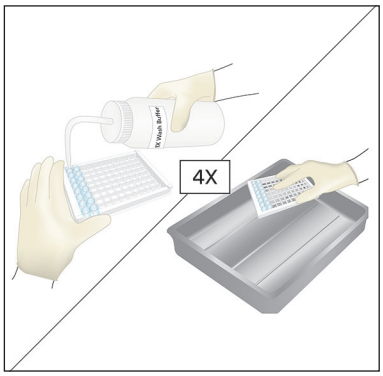


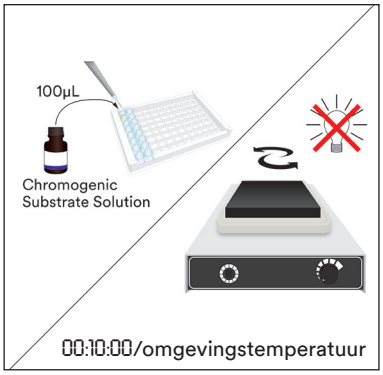


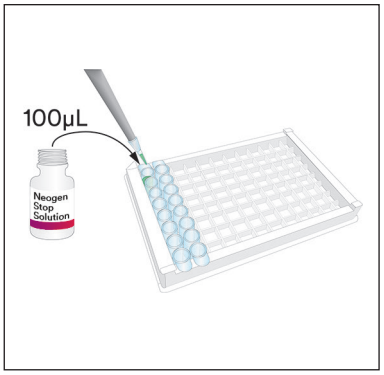


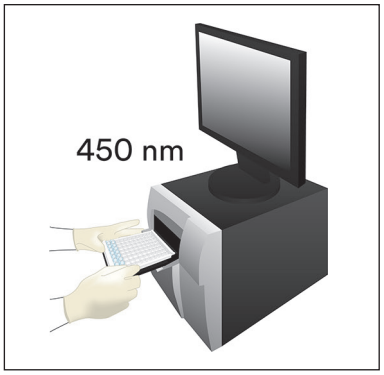












Resultatenanalyse

3.1 Trek de gemiddelde achtergrondwaarde van elk monster af (de gemiddelde gemeten absorptie van het monster minus de gemiddelde gemeten absorptie van standaard nul).

3.2 Construeer een standaardcurve, met behulp van computersoftware die in staat is een logische curve met vier parameters te genereren, door de concentratie in ng/ml (ppb) op de x-as en de gemeten absorptie van elke bijbehorende standaard op de y-as uit te zetten. Een polynoom (kwadratisch) van de tweede orde of andere curves kunnen ook worden gebruikt; ze zullen echter een minder nauwkeurig beeld kunnen vormen van de gegevens.

3.3 Bereken de monsterconcentraties van de standaardcurve; de eenheid van het resultaat is ng/ml (ppb). Vermenigvuldig daarna de monsterverdunningsfactor om de concentratie van het originele monster te verkrijgen. Bijvoorbeeld, als de totale verdunning van het monster 1/100 is en de monsterconcentratie van de standaardcurve is 200 ng/ml (ppb), dan is de uiteindelijke monsterconcentratie 200 ng/ml x 100 = 20.000 ng/ml (ppb), wat gelijk is aan 20 µg/ml (ppm).

Minimale prestatiekenmerken

a. De analytische detectiegrens is 7,2 ng/ml (ppb)

De detectiegrens wordt gedefinieerd als de laagste concentratie van het allergeen in een testmonster dat kan worden onderscheiden van een blanco monster op een specifiek waarschijnlijkheidsniveau[3]. Het wordt bepaald door drie standaarddeviaties op te tellen bij de gemiddelde optische dichtheidswaarde van achtenveertig herhalingen van standaard nul en de bijbehorende concentratie te berekenen.

b. De kwantificatielimiet is 1 ppm

De kwantificatielimiet wordt gedefinieerd als het laagste niveau van het allergeen in een testmonster dat redelijkerwijs gekwantificeerd kan worden op een gespecificeerd precisieniveau[3].

Precisie

Precisie intratest	Gemiddeld %CV = <10	N=12
Precisie intertest	Gemiddeld %CV = <10	N=12

Referenties

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.

2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.

3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

Verklaring van symbolen

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

NEOGEN®

Produktinformation

Mollusk Protein ELISA Kit

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) för kvantitativ analys av molluskproteiner.

Produktbeskrivning och avsedd användning

Neogen® Mollusk Protein ELISA Kit är avsedd för screening av molluskproteiner i rengör-på-plats (CIP) sista sköljvattnet, sköljvattenprover, livsmedelsingredienser och processade livsmedelsprodukter.

Neogen Mollusk Protein ELISA Kit använder en sandwich-ELISA. De molluskproteiner som finns närvarande i provet reagerar med anti-molluskantikroppen, som har adsorberats till ytan av polystyrenmikrotiterbrunnar. Efter avlägsnandet av obundna proteiner genom tvättning tillsätts molluskantikroppar konjugerade med pepparrotsperoxidas (HRP). Dessa enzymmärkta antikroppar bildar komplex med det tidigare bundna molluskproteinet. Efter ett andra tvättningssteg detekteras enzymet som är bundet till immunosorbenten genom tillsättning av ett kromogent substrat, 3,3’,5,5’-tetrametylbensidin (TMB). Färgutvecklingen från denna enzymatiska reaktion varierar direkt med koncentrationen av molluskprotein i provet som testas; därför utgör absorbansen vid 450 nm ett mått på koncentrationen av molluskprotein i provet. Mängden molluskprotein i provet kan extrapoleras från standardkurvan, vilken är konstruerad från standarder med känd koncentration, och justeras för att beakta provutspädningen.

Neogen Mollusk Protein ELISA Kit är avsedd för användning i laboratoriemiljö av yrkespersoner som är utbildade i laboratorieteknik. Neogen har inte dokumenterat användningen av denna produkt inom andra industrier än livsmedels- och dryckesindustrin. Neogen har exempelvis inte dokumenterat produkten för testning av läkemedel, kosmetika, kliniska prover eller veterinärprover. Neogen Mollusk Protein ELISA Kit har inte utvärderats med samtliga möjliga livsmedelsprodukter, livsmedelsbearbetningsmetoder och testprotokoll.

Neogen Mollusk Protein ELISA Kit innehåller 96 tester, som beskrivs i tabell 1.

Tabell 1. Satsens delar

Artikel	Identifikation	Beredning (se avsnittet Reagensberedning för information)	Förvaring	Stabilitet
Neogen® Mollusk Protein ELISA brunnar	En foliepåse med en platta med 96 borttagbara antikroppsbelagda brunnar.	Klara att användas.	2-8 °C i förseglad foliepåse med torkmedel.	Återförslut foliepåsen som innehåller oanvända brunnar och torkmedel. Förvaras vid 2-8 °C för att bibehålla stabiliteten fram till utgångsdatumet för satsen.
Neogen® Mollusk HRP-konjugat (10X)	En ampull med 1,5 ml 10X pepparrotsperoxidas (HRP) konjugerad antikropp (10X).	Späd 1/10 omedelbart innan användning för att bereda en 1X arbetslösning.	2-8 °C i mörker.	10X konjugatet är stabilt fram till satsens utgångsdatum.
Neogen® Mollusk Protein standardkoncentrat	En ampull med en känd koncentration av molluskprotein.	Se avsnittet ELISA-procedur för standardberedning.	2-8 °C. Förvara inte i frys.	Neogen Mollusk Protein standardkoncentrat är stabilt fram till satsens utgångsdatum.

Neogen® spädningslösning (5X)	En flaska med 50 ml 5X spädningslösning.	Späd 1/5 omedelbart innan användning för att bereda en 1X arbetslösning.	2-8 °C	The 5X Neogen spädningslösning är stabil fram till satsens utgångsdatum.
Neogen® tvättlösning (20X)	En flaska med 50 ml 20X tvättlösning.	Späd 1/20 för att bereda en 1X arbetslösning.	2-8 °C för både 1X arbetslösning och 20X tvättlösningskoncentrat.	20X Neogen tvättlösning är stabil fram till satsens utgångsdatum. 1X tvättlösning är stabil i minst en vecka efter beredningen.
Neogen® extraktionsbuffert E26 (4X)	En flaska med 120 ml 4X extraktionsbuffert.	Späd 1/4 för att bereda en 1X arbetslösning. Arbetslösningen bör värmas upp till 50-60 °C innan användning.	2-8 °C för både 1X arbetslösning och 4X Neogen extraktionsbuffertkoncentrat.	1X extraktionsbuffert och 4X Neogen extraktionsbuffert är stabila fram till satsens utgångsdatum.
Neogen® kromogen substratlösning	En flaska med 12 ml 3,3',5,5'-tetrametylbensidin (TMB).	Klara att användas.	2-8 °C i mörker.	Skyddas från ljus. Neogen kromogen substratlösning är stabil fram till satsens utgångsdatum.
Neogen® stopplösning	En flaska med 12 ml 0,3 M svavelsyra.	Klara att användas.	2-8 °C	Neogen stopplösning är stabil fram till satsens utgångsdatum.

Material som inte finns i satsen:

- Precisionspipetter och pipettspetsar för att samla 10 till 100 µl
- Provrör
- Bricka för mikrotiterplatta/aspirator
- Destillerat eller avjoniserat vatten
- Avläsare för mikrotiterplatta
- Diverse laboratoriematerial för beredning av reagens och buffertlösningar
- Timer
- Vortexblandare
- Skakvattenbad eller skakinkubator
- Orbital shaker

Säkerhet

Användaren ska läsa, förstå och följa all säkerhetsinformation i anvisningarna till Neogen Mollusk Protein ELISA Kit. Behåll säkerhetsanvisningarna för framtida bruk.

⚠ **VARNING!** Indikerar en farlig situation som, om den inte undviks, kan resultera i dödsfall eller allvarliga personskador och/eller materiella skador.

OBSERVERA! Indikerar en potentiellt farlig situation som, om den inte undviks, kan resultera i materiella skador.

⚠ VARNING

För att minska riskerna för kemikalieexponering ska du:

- Kassera enligt gällande lokala/regionala/industriella normer och föreskrifter.
- Användaren måste utbilda sin personal i rådande och korrekta testtekniker: till exempel god laboratoriesed[1] eller ISO/IEC 17025[2].

- Följ alltid praxis för standardiserad laboratoriesäkerhet, inklusive användning av lämpliga skyddskläder och skyddsglasögon vid hantering av reagenser.
- Undvik att Neogen stopplösning får kontakt med huden, se säkerhetsdatabladet för ytterligare säkerhetsinformation.

För att minska att riskerna som förknippas med falska-negativa resultat leder till att kontaminerade produkter släpps ut ska du:

- Förvara Neogen Mollusk Protein ELISA Kit enligt föreskrifterna på förpackningen och i produktinformationen.
- Använd Neogen Mollusk Protein ELISA Kit med livsmedels- och miljöprover som har validerats internt eller av en tredje part.
- Följ protokollet och utför testerna exakt så som beskrivs i relevant produktinformation.
- Neogen har inte dokumenterat användningen av Neogen Mollusk Protein ELISA Kit inom andra industrier än livsmedels- och dryckesindustrin. Neogen har exempelvis inte dokumenterat produkten för testning av läkemedel, kosmetika, kliniska prover eller veterinärprover.

För att minska att riskerna som förknippas med felaktiga resultat leder till att kontaminerade produkter släpps ut ska du:

- Använd alltid Neogen Mollusk Protein ELISA Kit före utgångsdatumet.
- Alltid bereda arbetslösningar med användning av koncentrerade reagens som hör till Neogen Mollusk Protein ELISA Kit vid 20-25 °C temperatur.
- Neogen Mollusk Protein standardkoncentrat får inte frysas.
- Om den kromogena substratlösningen blir blå ska den inte användas. Följ god laboratoriesed[1] för att undvika korskontaminering av Neogen kromogen substratlösning.
- Neogen® Allergen Protein Testing Kits är inte avsedda för detektering av hydrolyserande proteiner.
- Neogen Allergen Protein Testing Kits är designade för att detektera proteiner från processad mat som har lösts upp i Neogen Extraction Buffer. Vissa livsmedelsbearbetningsmetoder kan begränsa upptäckten av dessa målproteiner.
- Viss livsmedelsbearbetning kan påverka detektionen av matproteiner med Neogen Allergen Protein Testing Kit. Användare bör verifiera att metoden är lämplig för att möta användarens krav.

OBSERVERA

För att minska riskerna som förknippas med felaktiga resultat:

- Provstabilitet efter extraktioner har inte utvärderats. ELISA-proceduren bör genomföras strax efter provextraktionen.
- Hantera Neogen Mollusk Protein standarder i enlighet med god laboratoriesed[1] för att undvika korskontaminering av prover.

Se säkerhetsdatabladet för mer information.

Besök vår webbsida på www.neogen.com eller kontakta din lokala Neogen-representant eller -återförsäljare för mer information om dokumentation av produktprestanda.

Användaransvar

Det åligger användarna att bekanta sig med produktinstruktioner och produktinformation. Besök vår webbsida på adressen **www.neogen.com** eller kontakta din lokala Neogen-representant eller -leverantör för mer information.

Precis som med alla testmetoder som används för matanalys kan testmatrisen påverka resultaten. Vid val av testmetod är det viktigt att inse att externa faktorer som provtagningsmetod, testprotokoll, provpreparering, hantering och laboratorieteknik kan påverka resultat. Matprovet i sig kan påverka resultatet.

Det är användarens ansvar att välja en testmetod eller produkt och att utvärdera tillräckligt antal prover för att försäkra användaren om att den valda testmetoden uppfyller användarens kriterier.

Det åligger också användaren att fastställa att en testmetod och dess resultat uppfyller kraven från dennes kunder och leverantörer.

Liksom med alla testmetoder utgör inte resultat som erhållits från användning av någon produkt från Neogen Livsmedelshygien en garanti för kvaliteten hos de matriser eller processer som testats.

Begränsning av garantier/Begränsad åtgärd

MED UNDANTAG AV VAD SOM UTTRYCKLIGEN ANGES I AVSNITT OM GARANTIBEGRÄNSNING FÖR INDIVIDUELLA FÖRPACKNINGAR, FRÅNSÄGER SIG NEOGEN ALLA UTTRYCKLIGA OCH UNDERFÖRSTÅDDA GARANTIER, INKLUSIVE, MEN INTE BEGRÄNSAT TILL, ALLA GARANTIER BETRÄFFANDE SÄLJBARHET ELLER

LÄMPLIGHET FÖR ETT VISST ÄNDAMÅL. Om någon produkt från Neogen Livsmedelshygien är defekt kommer Neogen eller dess auktoriserade leverantör att efter eget gottfinnande ersätta produkten eller återbetala produktens inköpspris. Detta är den enda ersättning som ges. Kontakta din Neogen-representant eller en godkänd Neogen-distributör om du har fler frågor.

Neogen ansvarsfriskrivning

NEOGEN KOMMER INTE ATT PÅTA SIG NÅGOT ANSVAR FÖR FÖRLUST ELLER SKADOR, VARE SIG DIREKTA, INDIREKTA, SÄRSKILDA, TILLFÄLLIGA ELLER EFTERFÖLJANDE SKADOR, INKLUSIVE, MEN INTE BEGRÄNSADE TILL, FÖRLORADE VINSTER. Under inga omständigheter ska Neogen:s ansvar i något som helst lagrum överskrida inköpspriset för den påstått defekta produkten.

Förvaring och kassering

Förvara alla Neogen Mollusk Protein ELISA Kit-komponenter vid 2-8 °C temperatur. Förvara inte i frys. Förvara spädda arbetslösningar enligt beskrivningen i tabell 1.

Neogen Mollusk Protein ELISA Kit-komponenter bör inte användas efter utgångsdatumet. Utgångsdatum och partinummer anges på etiketten på lådans utsida.

Kassera enligt gällande lokala/regionala/industriella normer och föreskrifter.

Bruksanvisning

Följ alla anvisningar noggrant. Underlåtenhet att göra detta kan leda till felaktiga resultat.

Beredning av reagens

Se till att alla reagenser har samma temperatur som omgivande temperatur (20-25 °C) innan användning. Använd ren laboratorieutrustning för att späda och lagra arbetslösningar.

a. Neogen extraktionsbuffert

För att bereda 1X extraktionsbuffert, tillsätt en del av Neogen extraktionsbuffert (4X) och späd i tre delar avjoniserat eller destillerat vatten. Förvärm extraktionsbufferten (1X) till 50-60 °C i ett vattenbad eller skakinkubator innan användning. Varje prov kräver 4,5 ml 1X extraktionsbuffert.

b. Neogen spädningslösning

För att bereda 1X spädningslösning, tillsätt en del Neogen spädningsmedel (5X) till fyra delar avjoniserat eller destillerat vatten. Varje prov kräver totalt 4,5 ml 1X spädningslösning.

c. Neogen tvättlösning

För att bereda 1X tvättlösning, tillsätt en del Neogen tvättlösning (20X) till 19 delar avjoniserat eller destillerat vatten. Varje Neogen ELISA-brunn kräver ungefär 2,5 ml 1X tvättlösning.

Obs! Bildandet av kristaller i Neogen tvättlösningen (20X) kan ske vid lagring vid 2-8 °C. För upplösning av kristaller, värm Neogen tvättlösningen (20X) till 30-35 °C i ett vattenbad eller inkubator innan du bereder tvättlösningen (1X).

d. Neogen Mollusk HRP-konjugat

För att bereda 1X Mollusk HRP-konjugat, tillsätt en del av Neogen Mollusk HRP-konjugat (10X) och späd i 9 delar **1X spädningslösning**. Bered direkt innan användning. Varje Neogen ELISA-brunn kräver 100 µl 1X Mollusk HRP-konjugat.

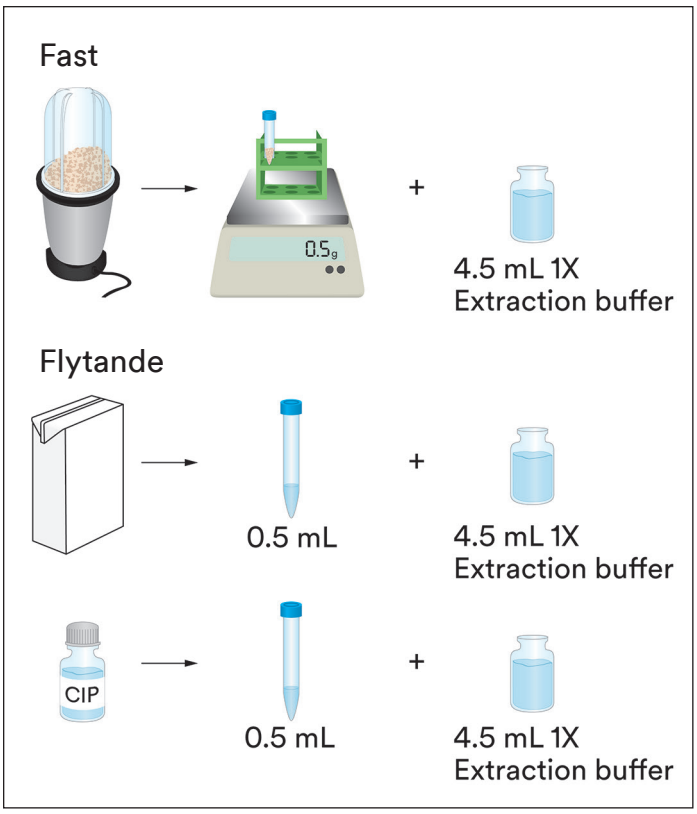
Provberedning

Obs! Alla prover bör extraheras med 1X extraktionsbuffert som förvärmts till 50-60 °C.

1.1 Bered prov för proteinextraktion i ett rent provrör eller engångsrör i enlighet med beskrivningen i tabell 2.

Tabell 2. Provberedning

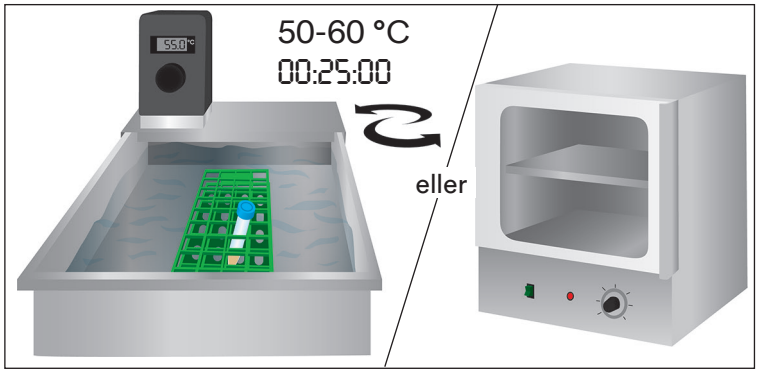
Provmatris	Provstorlek	Spädning (1/10)
Fast föda	0,5 ± 0,02 g	Tillsätt 4,5 ± 0,09 ml förvärmd 1X extraktionsbuffert
Flytande föda	0,5 ± 0,01 ml	Tillsätt 4,5 ± 0,09 ml förvärmd 1X extraktionsbuffert
Rengör-på-plats (CIP) sista sköljvattnet	0,5 ± 0,01 ml	Tillsätt 4,5 ± 0,09 ml förvärmd 1X extraktionsbuffert

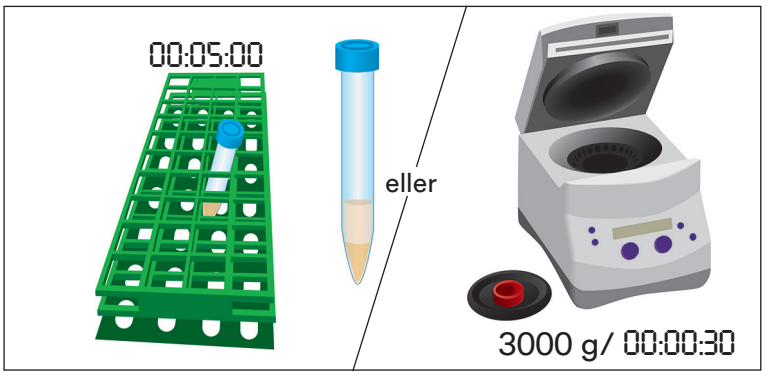


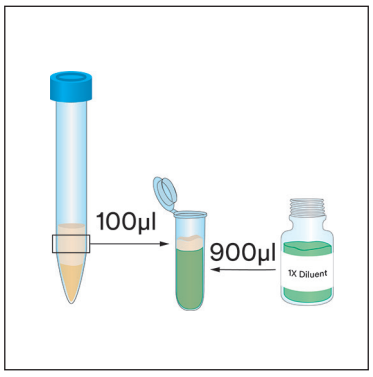
1.2 Inkubera utspädda prover i ett skakvattenbad eller skakinkubator vid 50-60 °C under 25 ± 1 minuter. Ett annat alternativ är att lämna proverna i ett vattenbad eller inkubator vid 50-60 °C och skaka manuellt under 1 minut var femte minut.

1.3 Efter inkubering ska proverna centrifugeras vid 5 000-7 000 rpm (3 000 x *g*) under 20 till 30 sekunder för att pellera partiklar eller låta dem sedimentera i 5 minuter i en provrörsställning.

1.4 Samla in 100 µl från det mellanliggande (vattenhaltiga) lagret och tillsätt det till 900 µl spädningslösning (1X). Vortexblanda eller skaka för att blanda väl (detta motsvarar en 1/100 spädning av det ursprungliga provet.)







ELISA-procedur

2.1 Avlägsna en Neogen ELISA-brunn per prov och/eller standard och placera brunnarna i brunnhållaren. Återför de oanvända Neogen ELISA-brunnarna till foliepåsen, försegla påsen och förvara den vid 2-8 °C.

2.2 Använd Neogen® Mollusk Protein standardkoncentrat för att bereda en uppsättning av fyra standarder spädda i spädningsbuffert (1X).

Standardnummer	Standardkoncentration (ng/ml)	Volym för standard som lagts till 1X spädningsmedel	Volym för 1X spädningslösning
4	270	10 µl av Neogen Mollusk Protein standardkoncentrat	990 µl
3	90	200 µl av standardnummer 4	400 µl
2	30	200 µl av standardnummer 3	400 µl
1	10	200 µl av standardnummer 2	400 µl
0	0	0	400 µl

2.3 Pipettera 100 µl av varje standard i Neogen ELISA-brunnarna.

- Standard 0 (1X spädningslösning)
- Standard 1 (10 ng/ml) ppb
- Standard 2 (30 ng/ml) ppb
- Standard 3 (90 ng/ml) ppb
- Standard 4 (270 ng/ml) ppb

2.4 Pipettera 100 µl av det extraherade provet som bereddes i 1.4 i en Neogen ELISA-brunn.

2.5 Inkubera Neogen ELISA-brunnarna på en orbital shaker inställd till 400 rpm vid omgivande temperatur (20-25 °C) under 30 ± 2 minuter. Håll brunnarna täckta och vid horisontell jämn höjdnivå under detta steg för att förhindra avdunstning.

2.6 Efter inkubationen ska innehållet i Neogen ELISA brunnarna aspireras.

2.7 Fyll varje Neogen ELISA brunn fullständigt med 1X tvättlösning och aspirera. Om tvätten görs manuellt ska plattan inverteras och innehållet ska hällas/skakas ut i en avfallsbehållare. Slå brunnarna hårt mot ett absorberande papper för att avlägsna resterande tvättlösning. Upprepa detta steg tre gånger för totalt fyra tvättar.

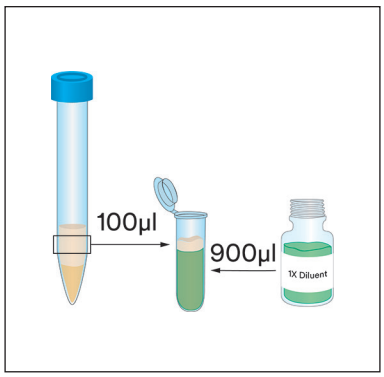
2.8 Pipettera 100 µl av 1X Mollusk HRP-konjugat i varje Neogen ELISA brunn. Inkubera på en orbital shaker inställd på 400 rpm vid omgivningstemperatur under 10 ± 2 minuter. Håll plattan täckt i mörker och vid horisontell jämn höjdnivå under detta steg.

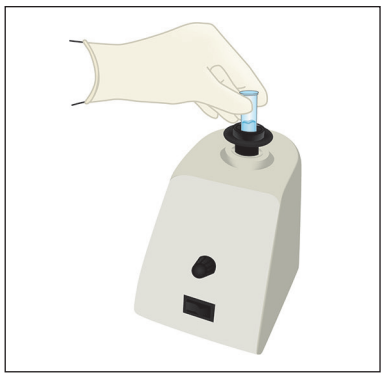
2.9 Upprepa steg 2.6 och 2.7 för att slutföra totalt fyra tvättar med tvättlösning (1X).

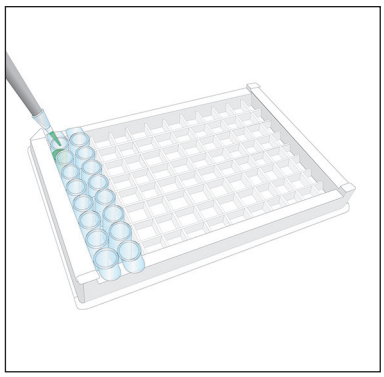
2.10 Pipettera 100 µl av Neogen kromogen substratlösning (TMB) i varje Neogen ELISA brunn.

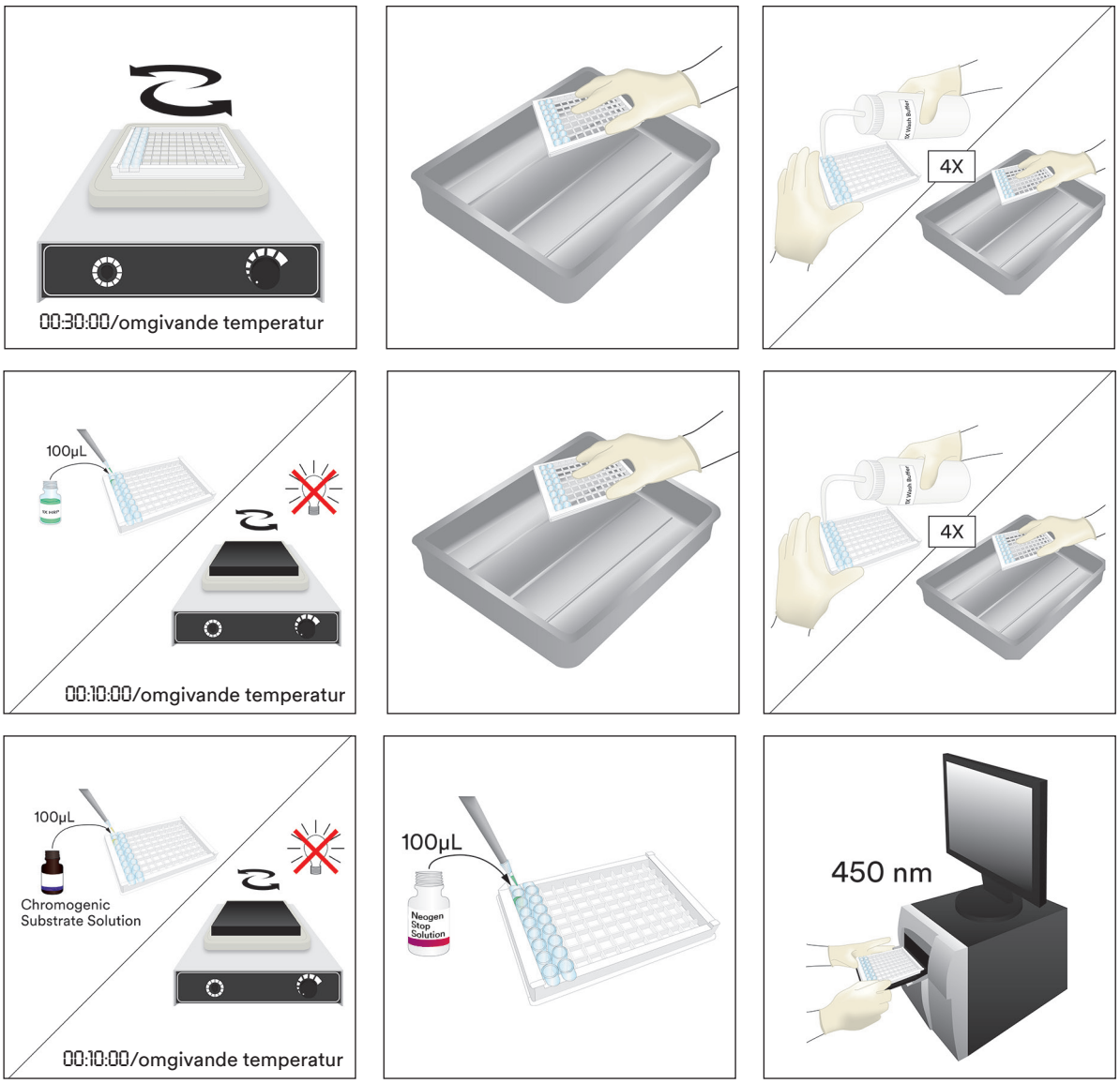
2.11 Inkubera på en orbital shaker inställd till 400 rpm vid omgivningstemperatur under 10 minuter. Håll plattan täckt i mörker och vid horisontell jämn höjdnivå under detta steg.

2.12 Efter inkubering, tillsätt 100 µl av Neogen stopplösning i varje Neogen ELISA brunn och bestäm absorbansen (vid 450 nm) inom 30 minuter.









Resultatanalys

3.1 Subtrahera det genomsnittliga bakgrundsvärdet för varje prov (genomsnittlig absorbansavläsning av provet minus genomsnittlig absorbansavläsning av standard noll.)

3.2 Använd en datorprogramvara som kan generera en 4-parameters logistikkurvanpassning och konstruera en standardkurva genom att plotta koncentrationen i ng/ml (ppb) på x-axeln och absorbansavläsningen till varje motsvarande standard på y-axeln. Ett andra ordningens polynom (kvadratisk) eller andra kurvanpassningar kan också användas; de kommer emellertid att ge en mindre exakt passning av data.

3.3 Beräkna provkoncentrationerna från standardkurvan; resultatenheten är i ng/ml (ppb). Multiplicera sedan med provutspädningsfaktorn för att få originalprovets koncentration. Om exempelvis den totala spädningen av provet är 1/100 och provkoncentrationen för standardkurvan är 200 ng/ml (ppb) är den slutliga provkoncentrationen 200 ng/ml x 100 = 20 000 ng/ml (ppb), vilket är 20 µg/ml (ppm).

Minsta prestandaegenskaper

a. Detektionsgränsen (Limit of Detection, LOD) är 7,2 ng/ml (ppb)

Detektionsgränsen definieras som den lägsta koncentrationen av allergenet i ett testprov som kan särskiljas från ett sant blindprov vid en bestämd sannolikhetsnivå[3]. Den bestäms genom att lägga till tre standardavvikelser till det genomsnittliga optiska densitetsvärdet för fyrtioåtta standard nollreplikat och beräkna motsvarande koncentration.

b. Kvantifieringsgränsen (Limit of Quantification, LOQ) är 1 ppm

Kvantifieringsgränsen definieras som den lägsta nivån av allergenet i ett testprov som rimligen kan kvantifieras vid en specificerad nivå av precision[3].

Precision

Metodens inbyggda precision	Medelvärde %CV = <10	N=12
Internprecision för metoden	Medelvärde %CV = <10	N=12

Referenser

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

Symbolförklaringar

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

NEOGEN®

Produktvejledning

Mollusk Protein ELISA Kit

En enzymkoblet immunosorbent-analyse (ELISA) til kvantitativ analyse af molluskproteiner.

Teknisk beskrivelse og tilsigtet anvendelse

Neogen® Mollusk Protein ELISA Kit er beregnet til påvisning af molluskproteiner i clean-in-place (CIP) slutskyllevand, miljømæssige prøver, fødevareingredienser og forarbejdede fødevarer.

Neogen Mollusk Protein ELISA Kit bruger en sandwich-ELISA. Molluskproteinerne, som er til stede i prøven, reagerer med antimollusk-antistoffet, der er adsorberet til overfladen af polystyrenmikrotiterbrønde. Efter fjernelse af ubundne proteiner ved vask tilsættes antimollusk-antistoffer konjugeret med peberrodsperoxidase (HRP). Disse enzymmærkede antistoffer danner komplekser med det tidligere bundne molluskprotein. Efter et andet vasketrin detekteres enzymet bundet til immunosorbenten ved tilsætning af et kromogent substrat, 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin (TMB). Farveudviklingen fra denne enzymatiske reaktion varierer direkte med koncentrationen af molluskprotein i den testede prøve; absorption ved 450 nm er således et mål for koncentrationen af molluskprotein i testprøven. Mængden af molluskprotein i testprøven kan ekstrapoleres fra standardkurven, konstrueret ud fra standarder med kendt koncentration og justeret til at tage højde for prøvefortyndingen.

Neogen Mollusk Protein ELISA Kit er beregnet til brug i laboratorieomgivelser af fagfolk, der er uddannede i laboratorieteknikker. Neogen har ikke dokumenteret brugen af dette produkt i andre brancher end føde- og drikkevarebranchen. For eksempel har Neogen ikke dokumenteret dette produkt til test af medicinalvarer, kosmetiske, kliniske eller veterinære prøver. Neogen Mollusk Protein ELISA Kit er ikke blevet evalueret med alle mulige fødevareprodukter, fødevareprocesser og testprotokoller.

Neogen Mollusk Protein ELISA Kit indeholder 96 brønde, der er beskrevet i tabel 1.

Tabel 1. Kittets komponenter

Artikel	Identifikation	Klargøring (Se afsnittet Reagensklargøring for detaljer)	Opbevaring	Stabilitet
Neogen® Mollusk Protein ELISA-brønde	En foliepose med en plade af 96 aftagelige antistofbelagte brønde.	Klar til brug.	2-8 °C i forseglet foliepose med tørremiddel.	Genforsegl folieposen, der indeholder ubrugte brønde og tørremiddel. Opbevares ved 2-8 °C for at opretholde stabiliteten indtil udløbsdatoen for kittet.
Neogen® Mollusk HRP-konjugat (10X)	Et hætteglas med 1,5 ml 10X peberrodsperoxidase (HRP) konjugeret antistof (10X).	Fortynd 1/10 umiddelbart inden brug for at lave en 1X arbejdsopløsning.	2-8 °C i mørke.	10X konjugatet er stabilt indtil udløbsdatoen for kittet.
Neogen® Mollusk Protein standardkoncentrat	Et hætteglas med en kendt koncentration af molluskprotein.	Der henvises til afsnittet ELISA-procedure for standardklargøring.	2-8 °C. Undlad at fryse.	Neogen Mollusk Protein standardkoncentrat er stabilt indtil udløbsdatoen for kittet.
Neogen®-fortynder (5X)	Én flaske med 50 ml af 5X fortynder.	Fortynd 1/5 umiddelbart inden brug for at lave en 1X arbejdsopløsning.	2-8 °C	5X Neogen-fortynderopløsning er stabil indtil udløbsdatoen for kittet.

Neogen®-vaskeopløsning (20X)	Én flaske med 50 ml af 20X vaskeopløsning.	Fortynd 1/20 for at lave en 1X arbejdsopløsning.	2-8 °C for både 1X arbejdsopløsning og 20X vaskopløsningskoncentrat.	20X Neogen-vaskopløsningen er stabil indtil udløbsdatoen for kittet. 1X vaskeopløsningen er stabil i mindst en uge efter klargøring.
Neogen®-ekstraktionsbuffer E26 (4X)	Én flaske med 120 ml af 4X ekstraktionsbuffer.	Fortynd 1/4 for at lave en 1X arbejdsopløsning. Arbejdsopløsningen skal opvarmes til 50-60 °C før brug.	2-8 °C for både 1X arbejdsopløsning og 4X Neogen-ekstraktionsbufferkoncentrat.	1X ekstraktionsbuffer og 4X Neogen-ekstraktionsbuffer er stabile indtil udløbsdatoen for kittet.
Neogen®-kromogenisk substratopløsning	Én flaske med 12 ml af 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin (TMB).	Klar til brug.	2-8 °C i mørke.	Beskyt mod lys. Neogen-kromogenisk substratopløsning er stabil indtil udløbsdatoen for kittet.
Neogen®-stopopløsning	Én flaske med 12 ml af 0,3 M svovlsyre.	Klar til brug.	2-8 °C	Neogen-stopopløsningen er stabil indtil udløbsdatoen for kittet.

Materialer, der ikke følger med kittet:

- Præcisionspipetter og pipettespidser til at indsamle 10 til 100 µl
- Reagensrør
- Mikrotiterpladevasker/aspirator
- Destilleret eller deioniseret vand
- Mikrotiterpladeaflæser
- Assorteret laboratorieudstyr til fremstilling af reagenser og bufferopløsninger
- Timer
- Vortex-blander
- Rystevandbad eller rysteinkubator
- Orbital ryster

Sikkerhed

Brugeren skal læse, forstå og følge alle sikkerhedsoplysninger i instruktionerne til Neogen Mollusk Protein ELISA Kit. Gem sikkerhedsvejledningen til fremtidig reference.

⚠ **ADVARSEL:** Indikerer en farlig situation, som kan resultere i dødsfald eller alvorlig personskade og/eller skade på ejendele, hvis denne ikke undgås.

BEMÆRK: Indikerer en potentielt farlig situation, som udgør en risiko for beskadigelse af ejendom, hvis den ikke undgås.

⚠ ADVARSEL

For at reducere risici forbundet med eksponering for kemikalier:

- Bortskaffes i henhold til gældende lokale/regionale/nationale/industristandarder og regulativer.
- Brugeren skal uddanne sit personale i de aktuelle, korrekte testteknikker; for eksempel god laboratoriepraksis[1] eller ISO/IEC 17025[2].
- Følg altid sikkerhedspraksis for et standardlaboratorium, inklusive brug af passende beskyttelsesudstyr og beskyttelsesbriller under håndtering af reagenser.
- Undgå hudkontakt med Neogen-stopopløsning. Se sikkerhedsdatablad for yderligere sikkerhedsoplysninger.

For at mindske risiciene i forbindelse med falske negative resultater, der fører til frigørelse af kontamineret produkt:

- Opbevar Neogen Mollusk Protein ELISA Kit som angivet på pakken og i produktvejledningen.
- Anvend Neogen Mollusk Protein ELISA Kit til fødevare og miljøprøver, der er blevet godkendt internt eller af en tredjepart.
- Følg proceduren, og udfør tests præcist som angivet i produktvejledning.
- Neogen har ikke dokumenteret brugen af Neogen Mollusk Protein ELISA Kit i andre brancher end føde- og drikkevarebranchen. For eksempel har Neogen ikke dokumenteret dette produkt til test af medicinalvarer, kosmetiske, kliniske eller veterinære prøver.

For at mindske risiciene i forbindelse med unøjagtige resultater, der fører til frigørelse af kontamineret produkt:

- Anvend altid Neogen Mollusk Protein ELISA Kit inden udløbsdatoen.
- Klargør altid arbejdsopløsninger ved hjælp af Neogen Mollusk Protein ELISA Kit-koncentrerede reagenser ved 20-25 °C temperatur.
- Undlad at fryse Neogen Mollusk Protein standardkoncentrat.
- Hvis den kromogeniske substratopløsning bliver blå, må den ikke bruges. Følg god laboratoriepraksis[1] for at undgå krydskontaminering af Neogen-kromogenisk substratopløsning.
- Neogen® Allergen Testing Kits er ikke beregnet til detection af hydrolyseret proteiner.
- Neogen Allergen Protein Testing Kits er designet til at påvise proteiner fra forarbejdede fødevarer, når de er opløst i Neogen-ekstraktionsbuffer. Nogle metoder til fødevareforarbejdning kan begrænse påvisningen af disse målproteiner.
- Nogle former for fødevareforarbejdning kan påvirke påvisningen af fødevareproteiner med Neogen Allergen Protein Testing Kits. Brugere skal kontrollere, at metoden er egnet til at dække det aktuelle behov.

BEMÆRK

For at reducere risici forbundet med unøjagtige resultater:

- Prøvestabilitet efter ekstraktioner er ikke blevet evalueret. ELISA-proceduren bør udføres lige efter prøveekstraktion.
- Håndter Neogen Mollusk Protein-standarder efter god laboratoriepraksis[1] for at forhindre krydskontaminering af prøver.

Se sikkerhedsdataarket for yderligere information.

For oplysninger om dokumentation af produktets kapacitet, så besøg vores hjemmeside www.neogen.com, eller kontakt din lokale Neogen-repræsentant eller -distributør.

Brugeransvar

Brugerne er ansvarlige for at gøre sig bekendt med produktvejledninger og oplysninger. Besøg vores websted på **www.neogen.com**, eller kontakt din lokale Neogen-repræsentant eller -distributør for yderligere oplysninger.

Som med alle testmetoder, der anvendes til fødevareanalyse, kan testmatricen påvirke resultaterne. Når der vælges en testmetode, er det vigtigt, at man er klar over, at eksterne faktorer såsom prøveudtagningsmetoder, testprotokoller, klargøring af prøven, håndtering samt laboratorieteknikker kan påvirke resultaterne. Selve fødevareprøven kan påvirke resultaterne.

Ved udvælgelse af en testmetode eller et produkt er det brugerens eget ansvar at vurdere et tilstrækkeligt antal prøver for at tilfredsstille brugeren om, at den valgte testmetode opfylder brugerens kriterier.

Det er også brugerens eget ansvar at fastsætte, at alle testmetoder og resultater lever op til kundernes og leverandørernes krav.

Som med alle andre testmetoder gælder det, at de resultater, der opnås med dette Neogen Food Safety-produkt, ikke giver garanti for kvaliteten af de testede matricer og processer.

Begrænsning af garantier/begrænsede beføjelser

BORTSET FRA HVAD DER ER UDTRYKKELIGT ANFØRT I DEN BEGRÆNSEDE GARANTI TIL INDIVIDUEL PRODUKTEMBALLAGE, FRASIGER NEOGEN SIG ALLE UDTRYKKELIGE OG UNDERFORSTÅEDE GARANTIER INDBEFATTET MEN IKKE BEGRÆNSET TIL ENHVER SALGBARHEDSGARANTI ELLER EGNETHED TIL EN BESTEMT ANVENDELSE. Hvis et Neogen Food Safety-produkt er behæftet med fejl eller mangler, vil Neogen eller en af dennes autoriserede distributører efter dennes eget skøn udskifte eller refundere produktets købspris. Dette er den eneste til rådighed værende afhjælpning. Kontakt venligst din Neogen-repræsentant eller autoriserede Neogen-distributør for yderligere spørgsmål.

Begrænsning af Neogen's ansvar

NEOGEN SKAL IKKE HOLDES ANSVARLIG FOR EVT. TAB ELLER SKADER, HVAD END DE ER OPSTÅET DIREKTE, INDIREKTE, UNDER SÆRLIGE OMSTÆNDIGHEDER ELLER TILFÆLDIGE SKADER INDBEFATTET MEN IKKE BEGRÆNSET TIL MISTET FORTJENESTE. Under ingen omstændigheder skal Neogen's erstatningsansvar kunne overstige købsprisen af produktet der efter sigende er behæftet med fejl.

Opbevaring og bortskaffelse

Opbevar Neogen Mollusk Protein ELISA Kit-indhold ved 2-8 °C. Undlad at fryse. Opbevar fortyndede arbejdsopløsninger som beskrevet i tabel 1.

Neogen Mollusk Protein ELISA Kit-komponenter må ikke anvendes efter udløbsdatoen. Udløbsdato og lotnummer findes på æskens udvendige mærkat.

Bortskaffes i henhold til gældende lokale/regionale/nationale/industristandarder og regulativer.

Brugsanvisning

Følg omhyggeligt alle vejledninger. Hvis dette ikke overholdes, kan det medføre unøjagtige resultater.

Klargøring af reagens

Bring alle reagenser til omgivelsestemperatur (20-25 °C) før brug. Brug rent laboratorieudstyr til at fortynde og opbevare arbejdsopløsninger.

a. Neogen-ekstraktionsbuffer

For at klargøre 1X ekstraktionsbuffer skal du tilsætte én del af Neogen-ekstraktionsbuffer (4X) og fortynde i tre dele deioniseret eller destilleret vand. Forvarm ekstraktionsbufferen (1X) til 50-60 °C i et vandbad eller rysteinkubator før brug. Hver prøve kræver 4,5 ml af 1X ekstraktionsbuffer.

b. Neogen-fortynderopløsning

For at klargøre 1X fortynderopløsning skal du tilsætte én del af Neogen-fortynder (5X) til fire dele deioniseret eller destilleret vand. Hver prøve kræver 4,5 ml af 1X fortynderopløsning.

c. Neogen-vaskeopløsning

For at klargøre 1X -vaskeopløsning skal du tilsætte én del af Neogen-vaskeopløsning (20X) til 19 dele deioniseret eller destilleret vand. Hver Neogen ELISA-brønd kræver ca. 2,5 ml 1X vaskeopløsning.

Bemærk: Dannelsen af krystaller i Neogen-vaskeopløsningen (20X) kan forekomme, når den opbevares ved 2-8 °C. For at opløse krystaller opvarmes Neogen-vaskopløsningen (20X) til 30-35 °C i et vandbad eller en inkubator inden klargøring af vaskeopløsningen (1X).

d. Neogen Mollusk HRP-konjugat

For at klargøre 1X Mollusk HRP-konjugat skal du tilsætte én del af Neogen Mollusk HRP-konjugat (10X) og fortynde i 9 dele af **1X fortynderopløsning**. Klargør umiddelbart før brug. Hver Neogen ELISA-brønd kræver 100 µl af 1X Mollusk HRP-konjugat.

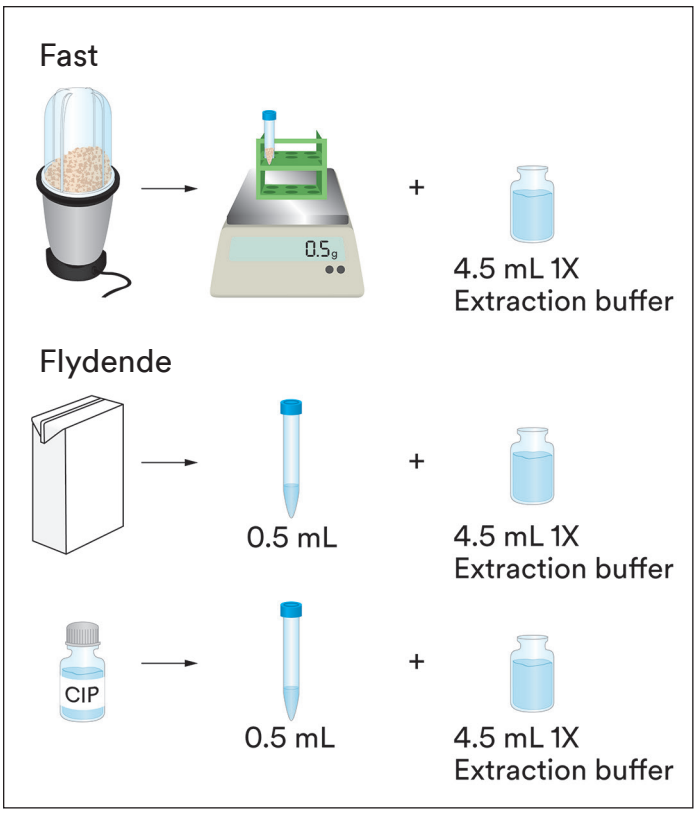
Prøveforberedelse

Bemærk: Alle prøver skal ekstraheres med 1X ekstraktionsbuffer forvarmet til 50-60 °C.

1.1 Klargør prøve til proteinekstraktion i et rent reagensrør eller engangsrør som beskrevet i tabel 2.

Tabel 2. Prøveforberedelse

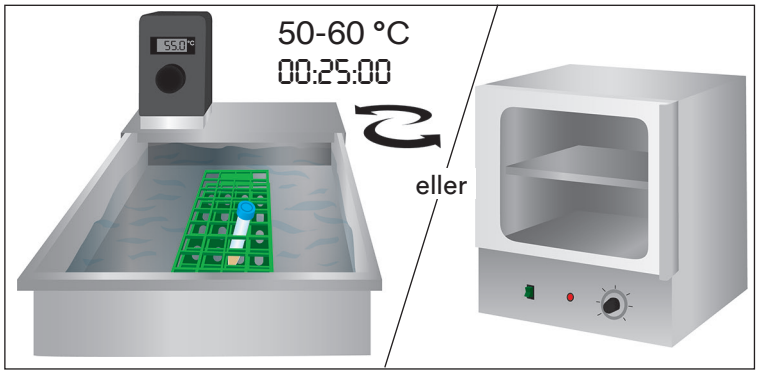
Prøvematrix	Prøvestørrelse	Fortynding (1/10)
Faste fødevarer	0,5 ± 0,02 g	Tilsæt 4,5 ± 0,09 ml af forvarmet 1X ekstraktionsbuffer
Flydende fødevarer	0,5 ± 0,01 ml	Tilsæt 4,5 ± 0,09 ml af forvarmet 1X ekstraktionsbuffer
Clean-in-place (CIP) slutskyllevand	0,5 ± 0,01 ml	Tilsæt 4,5 ± 0,09 ml af forvarmet 1X ekstraktionsbuffer

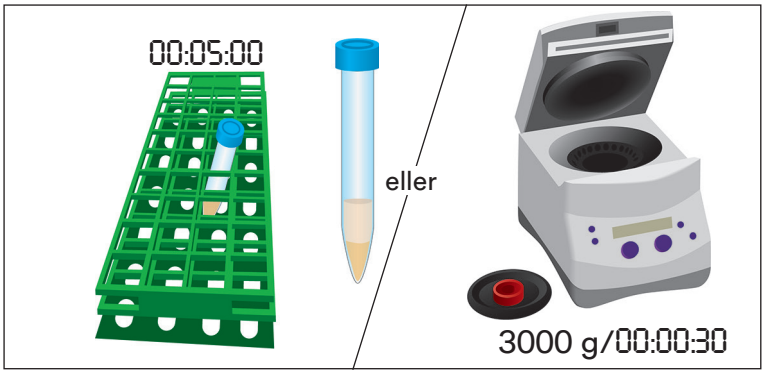


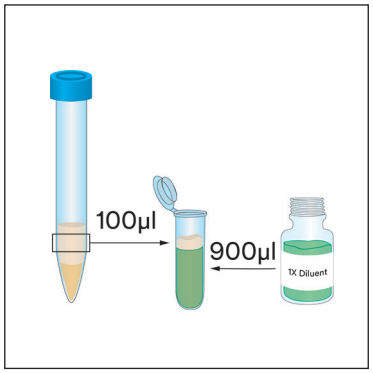
1.2 Inkuber fortyndede prøver i et rystevandbad eller rysteinkubator ved 50-60 °C i 25 ± 1 minutter. En anden mulighed er at efterlade prøverne i et vandbad eller en inkubator ved 50-60 °C og manuelt ryste i 1 minut hvert 5. minut.

1.3 Efter inkubering centrifugeres prøver ved 5000-7000 o/min. (3000 x *g*) i 20 til 30 sekunder for at pille partikler eller lade dem sætte sig i 5 minutter i et reagensrørstativ.

1.4 Indsaml 100 µl fra midterste (vandig) lag, og tilsæt de til 900 µl af fortynderopløsning (1X). Bland eller ryst for at blande godt (dette svarer til en 1/100-fortynding af den oprindelige prøve.)







ELISA-procedure

2.1 Fjern en Neogen ELISA-brønd pr. prøve og/eller standard, og placer brøndene i brøndholderen. Læg de ubrugte Neogen ELISA-brønde tilbage i folieposen. Genforsegl og returner til opbevaring ved 2-8 °C.

2.2 Brug Neogen Mollusk Protein standardkoncentratet til at klargøre et sæt af fire standarder fortyndet i fortynderopløsning (1X).

Standardnummer	Standardkoncentration (ng/mL)	Mængde af standard tilsat til 1X fortynder	Mængde af 1X fortynderopløsning
4	270	10 µl af Neogen Mollusk Protein standardkoncentrat	990 µl
3	90	200 µl af standardnummer 4	400 µl
2	30	200 µl af standardnummer 3	400 µl
1	10	200 µl af standardnummer 2	400 µl
0	0	0	400 µl

2.3 Pipettér 100 µl af hver standard ind i Neogen ELISA-brønde.

- Standard 0 (1X fortynderopløsning)
- Standard 1 (10 ng/ml) ppb
- Standard 2 (30 ng/ml) ppb
- Standard 3 (90 ng/ml) ppb
- Standard 4 (270 ng/ml) ppb

2.4 Pipettér 100 µl af den ekstraherede prøve klargjort i 1.4 ind i en Neogen ELISA-brønd.

2.5 Inkubér Neogen ELISA-brønde på en orbital ryster indstillet til 400 o/min. ved omgivelsestemperatur (20-25 °C) i 30 ± 2 minutter. Hold brøndene dækket og nivelleret under dette trin for at forhindre fordampning.

2.6 Efter inkubation aspireres indholdet af Neogen ELISE-brønde.

2.7 Fyld hver Neogen ELISA-brønd helt med 1X vaskeopløsning og aspirer. Hvis vasken udføres manuelt, skal du vende pladen og hælde/ryste indholdet ud i en affaldsbeholder og slå brøndene skarpt på absorberende papir for at fjerne resterende vaskeopløsning. Gentag dette trin tre gange for i alt fire vaske.

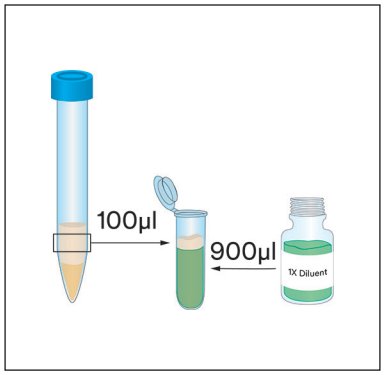
2.8 Pipettér 100 µl af 1X Mollusk HRP-konjugat ind i hver Neogen ELISA-brønd. Inkubér på en orbital ryster indstillet til 400 o/min. ved omgivelsestemperatur i 10 ± 2 minutter. Hold pladen dækket i mørket og nivelleret under dette trin.

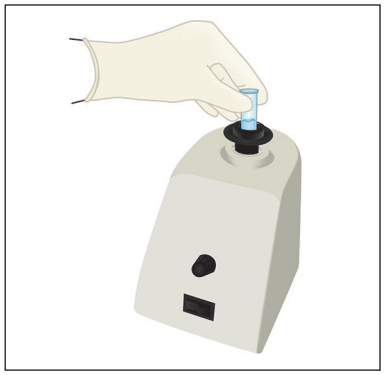
2.9 Gentag trin 2.6 og 2.7 for at færdiggøre i alt fire vaske med vaskopløsning (1X).

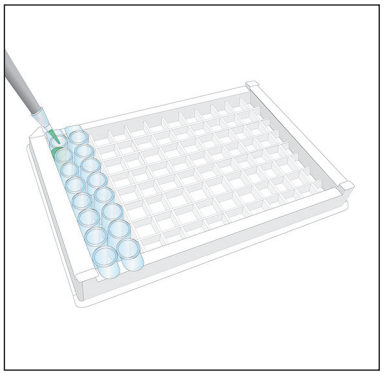
2.10 Pipettér 100 µl af Neogen-kromogenisk substratopløsning (TMB) ind i hver Neogen ELISA-brønd.

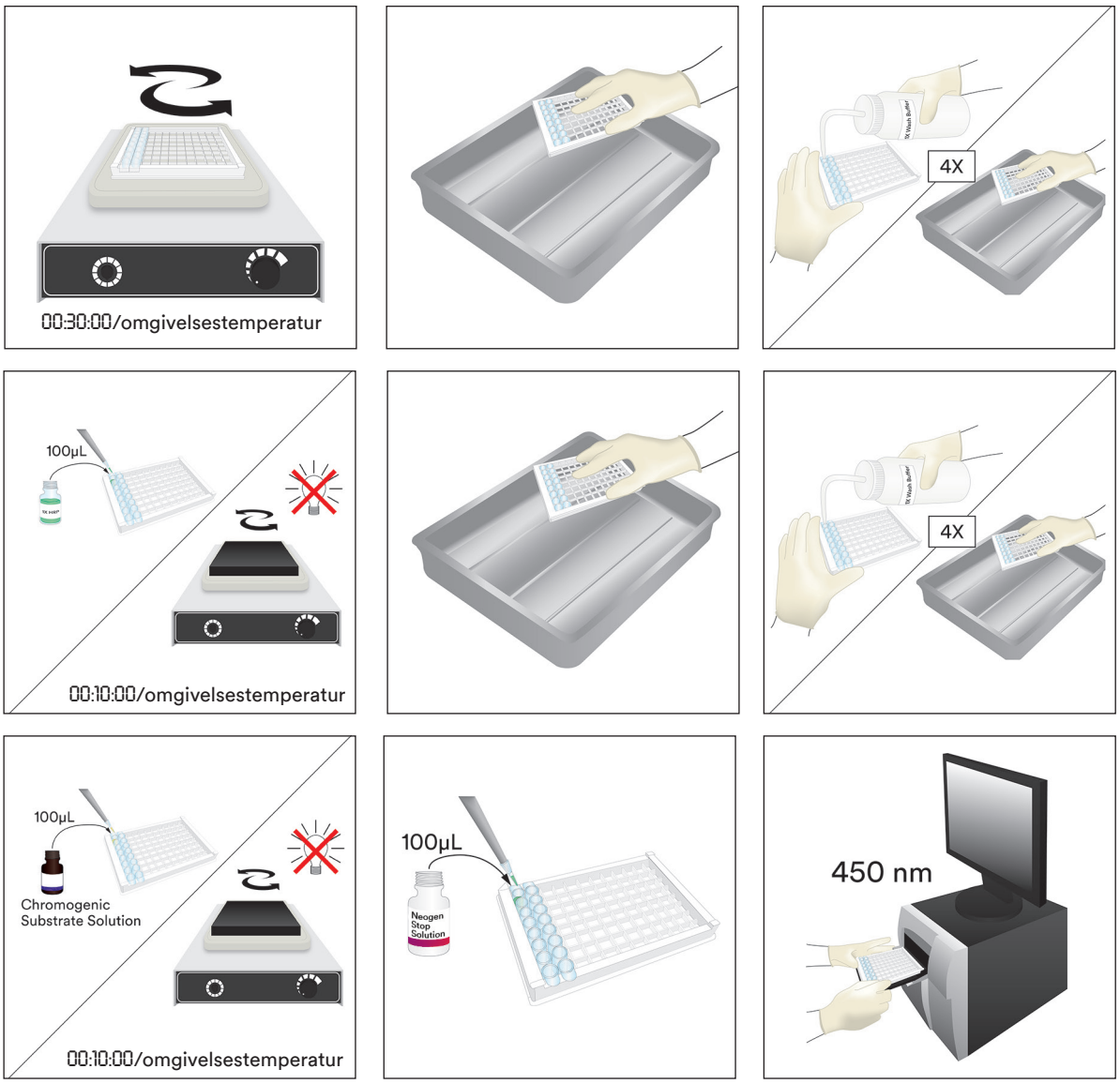
2.11 Inkubér på en orbital ryster indstillet til 400 o/min. ved omgivelsestemperatur i 10 minutter. Hold pladen dækket i mørket og nivelleret under dette trin.

2.12 Efter inkubation skal du tilsætte 100 µl af Neogen-stopopløsning til hver Neogen ELISA-brønd og bestemme absorptionen (ved 450 nm) inden for 30 minutter.









Resultatanalyse

3.1 Subtrahér den gennemsnitlige baggrundsværdi for hver prøve (gennemsnitlig absorptionsaflæsning af prøven minus gennemsnitsabsorptionsaflæsning af standard nul.)

3.2 Konstruér, ved hjælp af en computersoftware, der er i stand til at generere en fireparameterlogistikkurvepasning, en standardkurve ved at plotte koncentrationen i ng/ml (ppb) på x-aksen og absorptionsaflæsningen til hver tilsvarende standard på y-aksen. En anden rækkefølge polynomiske (kvadratiske) eller andre kurvetilpasninger kan også anvendes; de vil imidlertid være en mindre præcis tilpasning af dataene.

3.3 Beregn prøvekoncentrationerne ud fra standardkurven; resultatenheden er i ng/ml (ppb). Derefter multipliceres med prøvefortyndingsfaktor for at få koncentrationen af originalprøven. For eksempel, hvis den samlede fortynding af prøven er 1/100, og prøvekoncentrationen af standardkurven er 200 ng/ml (ppb), er den endelige prøvekoncentration 200 ng/ml x 100 = 20.000 ng/ml (ppb), som er 20 µg/ml (ppm).

Minimumsydeevneegenskaber

a. Den analytiske detektionsgrænse (LOD) er 7,2 ng/ml (ppb)

Detektionsgrænsen defineres som den laveste koncentration af allergenet i en testprøve, som kan skelnes fra en ægte blindprøve ved et bestemt sandsynlighedsniveau[3]. Den bestemmes ved at tilføje tre standardafvigelser til den gennemsnitlige optiske densitetsværdi af 48 standard nulreplikater og beregne den tilsvarende koncentration.

b. Kvantifikationsgrænsen (LOQ) er 1 ppm

Kvantifikationsgrænsen defineres som det laveste niveau af allergenet i en testprøve, som med rimelighed kan kvantificeres ved et bestemt præcisionsniveau[3].

Præcision

Intraanalyse-præcision	Gennemsnit %CV = <10	N=12
Interanalyse-præcision	Gennemsnit %CV = <10	N=12

Referencer

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

Symbolforklaring

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

NEOGEN®

Produktveiledning

Molluskprotein ELISA Kit

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for kvantitativ analyse av molluskproteiner.

Produktbeskrivelse og tiltenkt bruk

Neogen® molluskprotein ELISA Kit er beregnet for å påvise molluskproteiner i CIP skyllevann, miljøprøver, næringsmiddelingredienser og prosesserte næringsmidler.

Neogen molluskprotein ELISA Kit bruker en sandwich ELISA. Molluskproteinene som er til stede i prøven, reagerer med antistoffet anti-mollusk, som har blitt adsorbert til overflaten av polystyrenmikrotiterbrønnene. Etter fjerning av ubundne proteiner ved vasking, tilsettes antistoffer for anti-mollusk som er konjugert med pepperrotperoksidase (HRP). Disse enzymmerkede antistoffene danner komplekser med det tidligere bundne molluskproteinet. Etter et andre vasketrinn detekteres enzymet som er bundet til immunosorbenten ved tilsetning av et kromogent substrat, 3,3', 5,5'-tetrametylbenzidin (TMB). Fargeutviklingen fra denne enzymatiske reaksjonen varierer direkte med konsentrasjonen av molluskprotein i prøven som testes, absorbansen ved 450 nm er således et mål for konsentrasjonen av molluskprotein i testprøven. Mengden molluskprotein i prøven kan ekstrapoleres fra standardkurven, konstruert fra standarder med kjent konsentrasjon, og justeres for å vurdere prøvefortynningen.

Neogen molluskprotein ELISA Kit er beregnet for bruk i laboratoriemiljø av kompetente labteknikere som er utdannet i laboratorieteknikker. Neogen har ikke godkjent dette produktet for bruk i andre industrier enn mat og drikke. Neogen har for eksempel ikke godkjent dette produktet for testing av farmasøytiske, kosmetiske, kliniske eller veterinærprøver. Neogen molluskprotein ELISA Kit har ikke blitt evaluert med alle mulige næringsmidler, næringsmiddelprosesser og testprotokoller.

Neogen molluskprotein ELISA Kit inneholder 96 brønner, beskrevet i tabell 1.

Tabell 1. Settkomponenter

Objekt	Beskrivelse	Preparering (se delen Preparering av reagens for detaljer)	Oppbevaring	Stabilitet
Neogen® molluskprotein ELISA-brønner 	En foliepose med en plate med 96 avtagbare antistoffbelagte brønner.	Klar til bruk.	2-8 °C i forseglede folieposer med tørkemiddel.	Lukk folieposen som inneholder ubrukte brønner og tørkemiddel. Oppbevares ved 2-8 °C for å opprettholde stabiliteten til utløpsdatoen for settet.
Neogen® mollusk HRP-konjugat (10X) 	Et hetteglass med 1,5 ml 10X pepperrotperoksidase (HRP) konjugert antistoff (10X).	Fortynn 1/10 umiddelbart før bruk for å lage en 1X arbeidsløsning.	2-8 °C i mørket.	10X-konjugatet er holdbart til utløpsdatoen for settet.
Neogen® molluskprotein standard konsentrat 	Et hetteglass med kjent konsentrasjon av molluskprotein.	Se ELISA-prosedyredelen for standard preparering.	2-8 °C. Må ikke fryses.	Neogen molluskprotein standard konsentrat er holdbart til utløpsdatoen for settet.

Neogen® fortynningsmiddel (5X) 	En flaske med 50 ml 5X fortynningsmiddel.	Fortynn 1/5 umiddelbart før bruk for å lage en 1X arbeidsoppløsning.	2-8 °C	5X Neogen fortynningsmiddel er holdbar til utløpsdatoen for settet.
Neogen® vaskeløsning (20X) 	En flaske med 50 ml 20X vaskeløsning.	Fortynn 1/20 for å lage en 1X arbeidsløsning.	2-8 °C for både 1X arbeidsløsning og 20X vaskeløsningskonsentrat.	20X Neogen vaskeløsningen er holdbar til utløpsdatoen for settet. 1X-vaskeløsningen er holdbar i minst en uke etter preparering.
Neogen® Ekstraksjonsbuffer E26 (4X) 	En flaske med 120 ml 4X ekstraksjonsbuffer.	Fortynn 1/4 for å lage en 1X arbeidsløsning. Arbeidsløsningen skal varmes opp til 50-60 °C før bruk.	2-8 °C for både 1X arbeidsløsningen og 4X Neogen ekstraksjonsbufferkonsentratet.	1X ekstraksjonsbuffer og 4X Neogen ekstraksjonsbuffer er holdbare til utløpsdatoen for settet.
Neogen® kromogen substratløsning 	En flaske med 12 ml 3,3',5,5'-tetrametylbenzidin (TMB).	Klar til bruk.	2-8 °C i mørket.	Beskytt mot lys. Neogen kromogen substratløsningen er holdbar frem til utløpsdatoen for settet.
Neogen® stoppløsning 	En flaske 12 ml med 0,3 m svovelsyre.	Klar til bruk.	2-8 °C	Neogen stoppløsning er holdbar til utløpsdatoen for settet.

Materialer som ikke følger med i settet:

- Presisjonspipetter og pipettespisser for å samle 10 til 100 µl
- Reagensrør
- Mikrotiterplate vaskemaskin/aspirator
- Destillert eller deionisert vann
- Mikrotiter Automatisk Avleser
- Assortert laboratoriemateriell for fremstilling av reagenser og bufferløsninger
- Timer
- Reagensrørrister
- Risting av vannbad eller risting av inkubator
- Orbital rister

Sikkerhet

Brukeren må lese, forstå og følge all sikkerhetsinformasjon i bruksanvisningen for Neogen molluskprotein ELISA Kit. Behold sikkerhetsveiledningen for fremtidig referanse.

⚠ **ADVARSEL:** Indikerer en farlig situasjon som, om den ikke unngås, kan resultere i død eller alvorlig personskade og/eller materielle skader.

MERKNAD: Indikerer en potensielt farlig situasjon som, om den ikke unngås, kan føre til materielle skader.

⚠ ADVARSEL

For å redusere risikoene forbundet med eksponering for kjemikalier:

- Avhendes i henhold til gjeldende lokale/regionale/nasjonale/bransjemessige standarder og forskrifter.

- Brukeren må lære opp personalet i nåværende riktig testteknikk, for eksempel god laboratoriepraksis[1] eller ISO/IEC 17025[2].
- Følg alltid standard praksis for laboratoriesikkerhet, inkludert bruk av egnet personlig verneutstyr og øyevern ved håndtering av reagensrør.
- Unngå hudkontakt med Neogen stoppløsningen, se sikkerhetsdatabladet for ytterligere sikkerhetsinformasjon.

For å redusere risiko forbundet med falsk-negative resultater som kan føre til frislipp av kontaminert produkt:

- Oppbevar Neogen molluskprotein ELISA Kit slik som beskrevet på pakningen og i produktveiledningen.
- Bruk Neogen molluskprotein ELISA Kit med mat- og miljøprøver som er godkjent internt eller av en tredjepart.
- Følg protokollen og utfør testene akkurat slik de beskrives i produktveiledning.
- Neogen har ikke godkjent Neogen molluskprotein ELISA Kit for bruk i andre industrier enn mat og drikke. Neogen har for eksempel ikke godkjent dette produktet for testing av farmasøytiske, kosmetiske, kliniske eller veterinærprøver.

For å redusere risiko forbundet med unøyaktige resultater som kan føre til utslipp av kontaminert produkt:

- Bruk alltid Neogen molluskprotein ELISA Kit før utløpsdatoen.
- Preparer alltid arbeidsløsninger ved hjelp av de konsentrerte reagensene i Neogen molluskprotein ELISA Kit ved en temperatur på 20-25 °C.
- Neogen molluskprotein standard konsentratet må ikke utsettes for frost.
- Ikke bruk kromogen substratløsning hvis den blir blå. Følg god laboratoriepraksis[1] for å unngå krysskontaminering av Neogen kromogen substratløsning.
- Neogen® Allergen Protein testkit er ikke beregnet for påvisning av hydrolyserte proteiner.
- Neogen Allergen Protein kits er designet for å detektere proteiner fra prosesserte næringsmider løst opp i Neogen ekstraksjonsbuffer. Noen produksjonsmetoder kan hemme deteksjon av disse proteinene
- Noen produksjonsmetoder for næringsmidler kan ha en påvirkning på deteksjon av proteiner ved bruk av Neogen Allergen protein kits. Brukere bør verifisere at metoden er egnet til formålet og møter brukerens krav.

MERKNAD

For å redusere risikoen forbundet med unøyaktige resultater:

- Prøvestabilitet etter ekstraksjon har ikke blitt evaluert. ELISA-prosedyren bør utføres rett etter prøveekstraksjon.
- Håndter Neogen molluskproteinstandarder i henhold til god laboratoriepraksis[1] for å hindre krysskontaminering av prøver.

Se sikkerhetsdatabladet for ytterligere informasjon.

For informasjon om dokumentasjon av produktytelse, kan du besøke vår nettside på www.neogen.com eller kontakte din lokale Neogen-representant eller -forhandler.

Brukeransvar

Brukere er ansvarlige for å sette seg inn i produktveiledningen og informasjon om produktet. Besøk nettsiden vår **www.neogen.com** eller kontakt din lokale Neogen-representant eller distributør for mer informasjon.

Som med alle testmetoder brukt for matanalyse, kan testmatrisen påvirke resultatene. Ved valg av testmetode er det viktig å ta hensyn til at eksterne faktorer som metoder for stikkprøver, testprotokoller, preparering av prøver, håndtering og laboratorieteknikk kan påvirke resultatene. Matprøven i seg selv kan påvirke resultatene.

Det er brukerens ansvar å velge en testmetode eller et produkt for å evaluere en tilstrekkelig antall prøver for å tilfredsstille brukeren om at den valgte testmetoden oppfyller brukerens kriterier.

Det er også brukerens ansvar å fastslå at alle prøvemetoder og resultater tilfredsstiller kundens og leverandørens krav.

Som med alle testmetoder, utgjør ikke resultatene som oppnås ved bruk av noe Neogen Food Safety-produkt noen garanti om kvaliteten av matrisene eller prosessene som testes.

Begrensning av garanti/begrenset garantiforpliktelse

MED MINDRE DET ER UTTRYKKELIG SKREVET I EN BEGRENSET GARANTI PÅ EN PRODUKTPAKNING, FRASKRIVER NEOGEN SEG ALLE DIREKTE OG INDIREKTE GARANTIER, INKLUDERT MEN IKKE BEGRENSET TIL, ENHVER GARANTI OM SALGBARHET ELLER ANVENDELSE TIL ET BESTEMT FORMÅL. Hvis noe Neogen Food Safety-produkt er defekt vil Neogen eller dets autoriserte distributør erstatte eller refundere produktets kjøpesum etter eget skjønn. Dette er dine ubetingede rettigheter. Kontakt Neogen-representanten din eller den autoriserte Neogen-distributøren hvis du har flere spørsmål.

Begrensning av Neogens ansvar

NEOGEN VIL IKKE VÆRE ANSVARLIG FOR NOE TAP ELLER SKADE, DIREKTE ELLER INDIREKTE, SPESIELL, TILFELDIG ELLER FØLGESKADE, INKLUDERT, MEN IKKE BEGRENSET TIL, TAPT FORTJENESTE. Ikke under noen omstendighet skal Neogens ansvar, under noen juridisk teori, overstige kjøpesummen for et produkt som antas å være defekt.

Oppbevaring og avhending

Oppbevar Neogen molluskprotein ELISA Kit ved 2-8 °C. Må ikke fryses. Oppbevar fortynnede arbeidsløsninger som beskrevet i tabell 1.

Komponentene i Neogen molluskprotein ELISA Kit bør ikke brukes etter utløpsdatoen. Utløpsdato og lotnummer er angitt på etiketten på utsiden av esken.

Avhendes i henhold til gjeldende lokale/regionale/nasjonale/bransjemessige standarder og forskrifter.

Bruksanvisning

Følg alle instruksjonene nøye. Dersom dette ikke blir gjort, kan det føre til unøyaktige resultater.

Preparering av reagens

Varm alle reagenser opp til romtemperatur (20-25°C) før bruk. Bruk rent laboratoriemateriell til å fortynne og lagre arbeidsløsninger.

a. Neogen ekstraksjonsbuffer

For å preparere 1X ekstraksjonsbuffer, tilsett en del av Neogen ekstraksjonsbuffer (4X) og fortynn i tre deler deionisert eller destillert vann. Forvarm ekstraksjonsbufferen (1X) til 50-60°C i et vannbad eller risteinkubator før bruk. Hver prøve behøver 4,5 ml 1X ekstraksjonsbuffer.

b. Neogen fortynningsmiddel

For å preparere 1X fortynningsmiddel, tilsett en del av Neogen fortynningsmiddel (5X) til fire deler avionisert eller destillert vann. Hver prøve behøver totalt 4,5 ml 1X fortynningsmiddel.

c. Neogen vaskeløsninger

For å preparere 1X vaskeløsning, tilsett en del Neogen vaskeløsning (20X) til 19 deler avionisert eller destillert vann. Hver Neogen ELISA-brønn behøver omtrent 2,5 ml 1X vaskeløsning.

Merk: Det kan forekomme krystalldannelse i Neogen vaskeløsningen (20X) når den lagres ved 2-8°C. For å løse opp krystallene kan du varme Neogen vaskeløsningen (20X) til 30-35°C i et vannbad eller inkubator før preparering av vaskeløsningen (1X).

d. Neogen Mollusk HRP-konjugat

For å forberede 1X mollusk HRP-konjugat, tilsett en del av Neogen mollusk HRP-konjugat (10X) og fortynn den i 9 deler **1X fortynningsmiddel**. Klargjør umiddelbart før bruk. Hver Neogen ELISA-brønn trenger 100 µl av 1X mollusk HRP-konjugat.

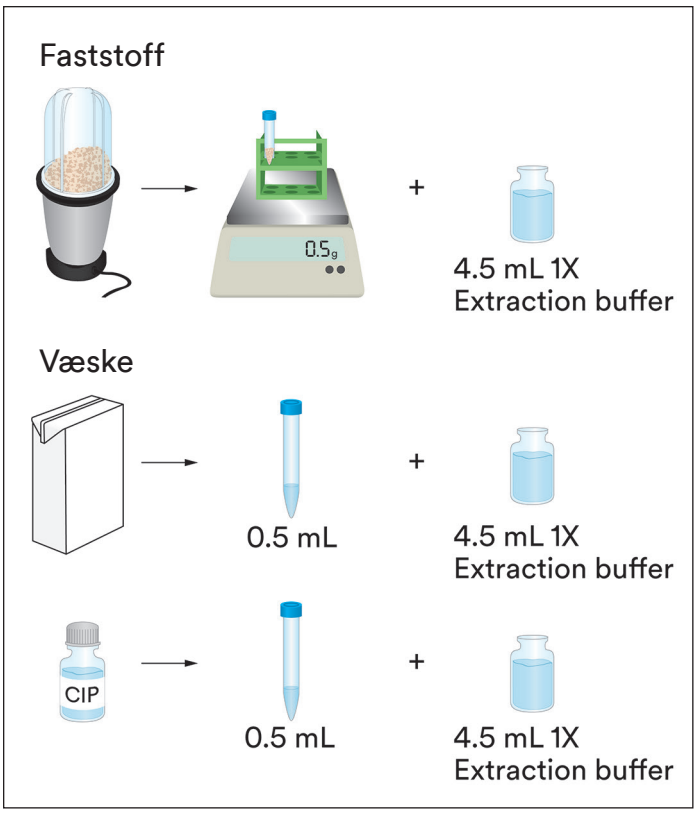
Prøvepreparering

Merk: Alle prøver bør ekstraheres med 1X ekstraksjonsbuffer forvarmet til 50-60°C.

1.1 Preparer prøven for proteinutvinning i et rent reagensrør eller engangsrør som beskrevet i tabell 2.

Tabell 2. Prøvepreparering

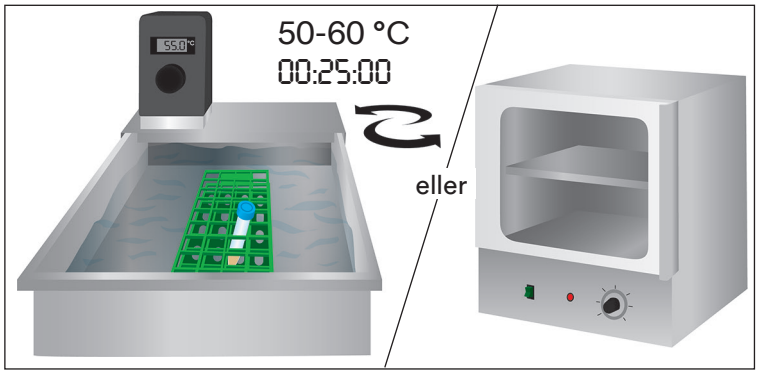
Prøvematriks	Prøvemengde	Fortynning (1/10)
Faste næringsmidler	0,5 ± 0,02 g	Tilsett 4,5 ± 0,09 ml forvarmet 1X ekstraksjonsbuffer
Flytende næringsmidler	0,5 ± 0,01 ml	Tilsett 4,5 ± 0,09 ml forvarmet 1X ekstraksjonsbuffer
Clean-in-Place (CIP) skyllevann	0,5 ± 0,01 ml	Tilsett 4,5 ± 0,09 ml forvarmet 1X ekstraksjonsbuffer

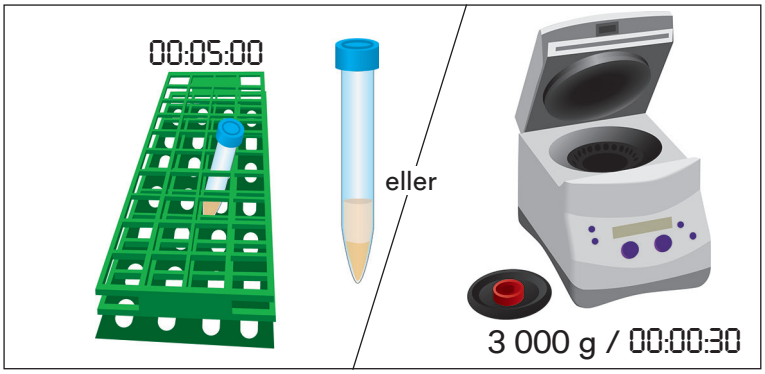


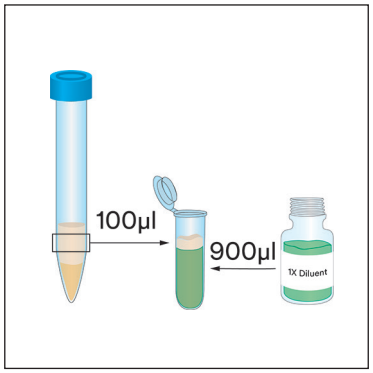
1.2 Inkuber fortynnede prøver i et ristende vannbad eller ristende inkubator ved 50-60 °C i 25 ± 1 minutt. Et annet alternativ er å la prøvene ligge i et vannbad eller inkubator ved 50-60°C og riste manuelt i 1 minutt hvert 5. minutt.

1.3 Etter inkubering sentrifugeres prøven ved 5000-7000 opm (3000 x *g*) i 20 til 30 sekunder for å pelletere partikler eller la dem sedimentere i 5 minutter i et reagensrørstativ.

1.4 Samle opp 100 µl fra det midtre (vandige) laget og tilsett det til 900 µi fortynningsløsningen (1X). Rør eller rist for å blande godt (dette tilsvarer en 1/100 fortynning av den opprinnelige prøven.)







ELISA-prosedyre

2.1 Ta en Neogen ELISA-brønn pr. prøve og/eller standard og plasser brønnene i brønnholderen. Returner de ubrukte Neogen ELISA-brønnene til folieposen, forsegle og sett tilbake til lagring ved 2-8°C.

2.2 Bruk Neogen molluskprotein standard konsentrat til å preparere et sett med fire standarder fortynnet i fortynningsløsning (1X).

Standardnummer	Standardkonsentrasjon (ng/mL)	Standardvolum tilsatt til 1X fortynningsmiddel	Volum av 1X fortynningsmiddel
4	270	10 µl av Neogen molluskprotein standard konsentrat	990 µl
3	90	200 µl av standard nummer 4	400 µl
2	30	200 µl av standard nummer 3	400 µl
1	10	200 µl av standard nummer 2	400 µl
0	0	0	400 µl

2.3 Pipette 100 µl av hver standard i Neogen ELISA-brønner.

- Standard 0 (1X fortynningsløsning)
- Standard 1 (10 ng/ml) ppb
- Standard 2 (30 ng/ml) ppb
- Standard 3 (90 ng/ml) ppb
- Standard 4 (270 ng/ml) ppb

2.4 Pipette 100 µl av den ekstraherte prøven tilberedt i 1.4 i en Neogen ELISA-brønn.

2.5 Inkuber Neogen ELISA-brønnene på en orbital-ristemaskin innstilt på 400 opm ved omgivelsestemperatur (20-25 °C) i 30 ± 2 minutter. Hold brønnene tildekket og i vater under dette trinnet for å unngå fordampning.

2.6 Sug opp innholdet i Neogen ELISA-brønnene etter inkuberingen.

2.7 Fyll fullstendig hver Neogen ELISA-brønn med 1X vaskeløsning og sug opp. Hvis vasken utføres manuelt må du vri platen og helle / riste innholdet i en avfallsbeholder og bank brønnene hardt på absorberende papir for å fjerne resterende vaskeløsning. Gjenta dette trinnet tre ganger for totalt fire vasker.

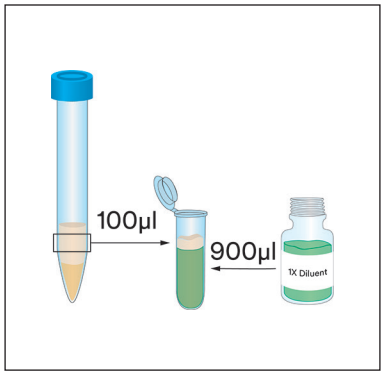
2.8 Pipette 100 µl av 1X mollusk HRP-konjugat i hver Neogen ELISA-brønn. Inkuber på en orbital-ristemaskin innstilt på 400 opm ved omgivelsestemperatur i 10 ± 2 minutter. Hold platen tildekket i mørket og plant under dette trinnet.

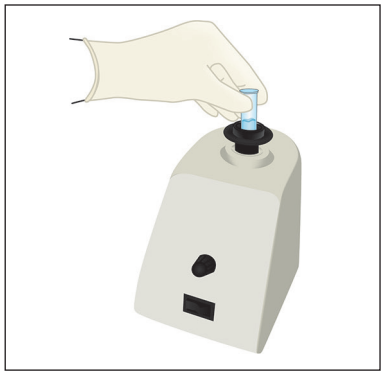
2.9 Gjenta trinn 2.6 og 2.7 for å fullføre totalt fire vasker med vaskeløsningen (1X).

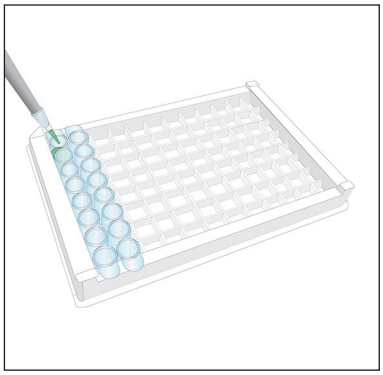
2.10 Pipette 100 µl Neogen kromogen substratløsning (TMB) i hver Neogen ELISA-brønn.

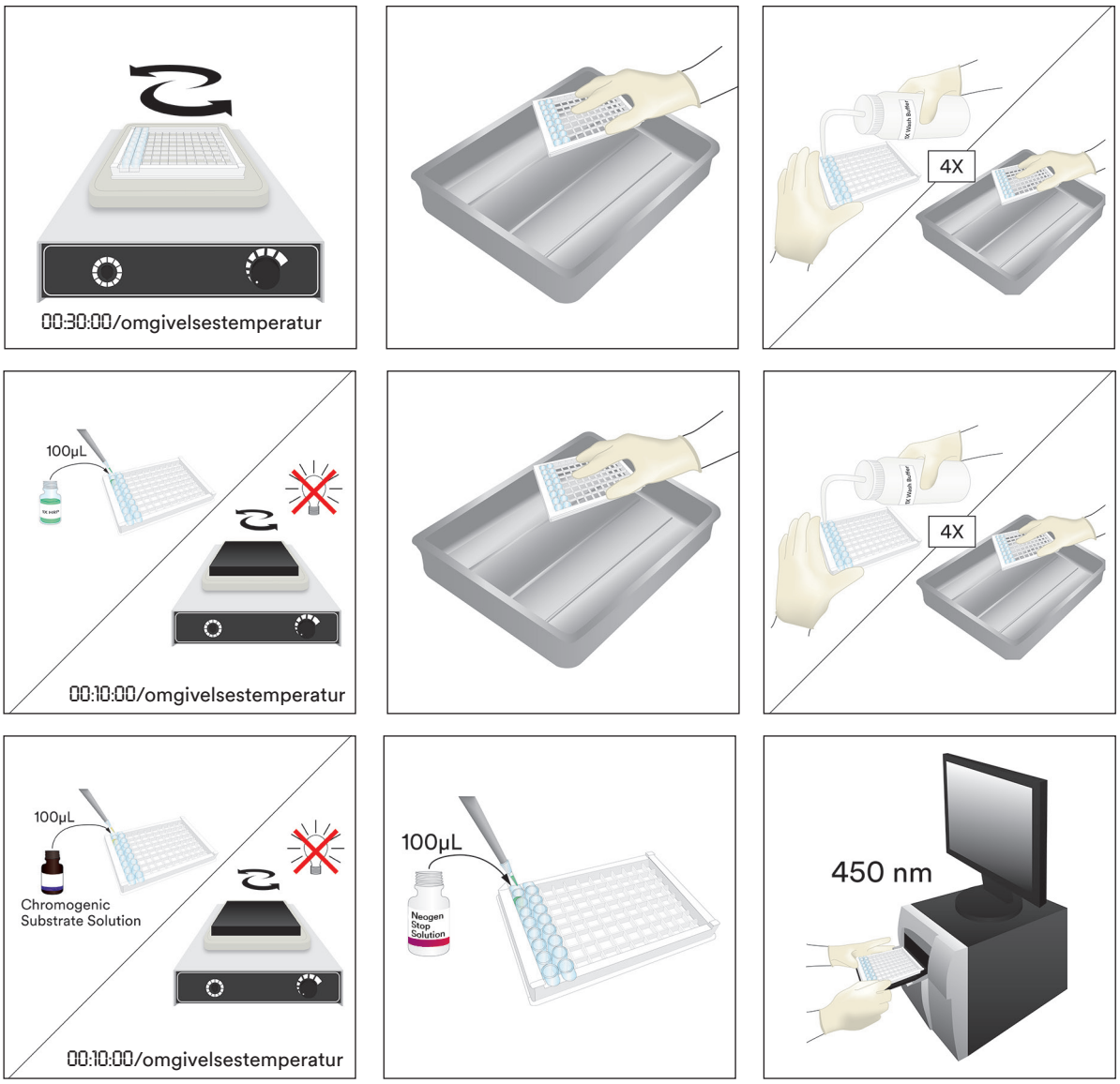
2.11 Inkuber på en orbital-ristemaskin innstilt på 400 rpm ved omgivelsestemperatur i 10 minutter. Hold platen tildekket i mørket og plant under dette trinnet.

2.12 Etter inkubering, tilsett 100 µl Neogen stoppløsning i hver Neogen ELISA-brønn og finn absorbansen (ved 450 nm) innen 30 minutter.









Resultatanalyse

3.1 Trekk fra gjennomsnittlig bakgrunnsverdi for hver prøve (gjennomsnittlig absorbansavlesning av prøven minus gjennomsnittlig absorbansavlesning av standard null.)

3.2 Bruk en dataprogramvare som er i stand til å generere en fireparameters logisk kurvetilpasning til å konstruere en standardkurve ved å plotte konsentrasjonen i ng/ml (ppb) på x-aksen og absorbansavlesningen til hver tilsvarende standard på y-aksen. En andre rekkefølge polynomial (kvadratisk) eller annen kurvetilpasning kan også benyttes, de vil imidlertid være en mindre presis passform av dataene.

3.3 Beregn prøvekonsentrasjonene ut fra standardkurven, resultatenheten er i ng/ml (ppb). Deretter multipliseres det med prøvefortynningsfaktoren for å få konsentrasjonen av originalprøven. Hvis, for eksempel, den totale fortynningen av prøven er 1/100, og prøvekonsentrasjonen av standardkurven er 200 ng/ml (ppb), er den endelige prøvekonsentrasjonen 200 ng/ml x 100 = 20 000 ng/ml (ppb) som er 20 µg/ml (ppm).

Minimum ytelsesegenskaper

a. Den analytiske deteksjonsgrensen (LOD) er 7,2 ng/ml (ppb)

Deteksjonsgrensen er definert som den laveste konsentrasjonen av allergenet i en testprøve som kan skilles fra en ekte blankprøve ved et spesifisert sannsynlighetsnivå[3]. Det bestemmes ved å legge til tre standardavvik til den gjennomsnittlige optiske tetthetsverdien av førtiåtte standard null-replikater og beregne den tilsvarende konsentrasjonen.

b. Kvantifiseringsgrensen (LOQ) er 1 ppm

Kvantifiseringsgrensen er definert som det laveste nivået av allergenet i en testprøve som kan rimelig kvantifiseres på et spesifisert presisjonsnivå på[3].

Presisjon

Intra-assay presisjon	Gjennomsnittlig %CV = <10	N=12
Inter-assay presisjon	Gjennomsnittlig %CV = <10	N=12

Referanser

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

Symbolforklaring

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

NEOGEN®

Instruções do Produto

Kit ELISA para Proteína de Molusco

Ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) para análise quantitativa de proteínas de molusco.

Descrição e Uso recomendado do produto

O Neogen® Kit ELISA para Proteína de Molusco tem a finalidade de detectar proteínas de molusco em água de último enxágue do clean-in-place (CIP), amostras de swab do ambiente, ingredientes alimentares e alimentos processados.

O Neogen Kit ELISA para Proteína de Molusco utiliza um ELISA sanduíche. As proteínas de molusco presentes na amostra reagem com o anticorpo anti-molusco, que foi adsorvido na superfície dos poços de microtitulação de poliestireno. Após a remoção das proteínas não ligadas através de enxágue, são adicionados os anticorpos anti-molusco conjugados com peroxidase de rábano (HRP). Estes anticorpos marcados com enzimas formam complexos com a proteína de molusco previamente ligada. Após uma segunda etapa de enxágue, a enzima ligada ao imunoabsorvente é detectada pela adição de um substrato cromogênico de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB). O desenvolvimento da cor desta reação enzimática varia diretamente com a concentração de proteína de molusco na amostra testada; assim, a absorção, em 450 nm, é a medida da concentração de proteína de molusco na amostra de teste. A quantidade de proteína de molusco na amostra de teste pode ser extrapolada da curva padrão, construída com base em padrões de concentração conhecida e ajustada para considerar a diluição da amostra.

O Neogen Kit ELISA para Proteína de Molusco destina-se para uso em laboratório por profissionais treinados em técnicas laboratoriais. A Neogen não documentou o uso deste produto em outros setores que não o de alimentos e bebidas. Por exemplo, a Neogen não documentou este produto para testar amostras farmacêuticas, de cosméticos, clínicas ou veterinárias. O Neogen Kit ELISA para Proteína de Molusco não foi avaliado com todos os alimentos, processos alimentares e protocolos de teste possíveis.

O Neogen Kit ELISA para Proteína de Molusco contém 96 poços, descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Componentes do Kit

Item	Identificação	Preparação (consulte a seção Preparação de Reagente para detalhes)	Armazenamento	Estabilidade
Neogen® Poços ELISA para Proteína de Molusco 	Um saco de alumínio com uma placa de 96 poços destacáveis revestidos com anticorpos.	Pronto para usar.	2 a 8°C em um saco de alumínio fechado com dessecante.	Feche novamente o saco de alumínio contendo poços não utilizados e dessecante. Armazene entre 2 e 8°C para manter a estabilidade até a data de validade do kit.
Neogen® Conjugado com HRP e Molusco (10X) 	Um frasco com 1,5 mL de anticorpo (10X) conjugado com HRP 10X.	Diluir 1/10 imediatamente antes do uso para fazer uma solução de uso 1X.	2 a 8°C no escuro.	O conjugado 10X fica estável até a data de validade do kit.
Neogen® Concentrado Padrão de Proteína de Molusco 	Um frasco com uma concentração conhecida de proteína de molusco.	Consulte a seção de Procedimento ELISA para preparação padrão.	2-8°C. Não congele.	O Neogen Concentrado Padrão de Proteína de Molusco fica estável até a data de validade do kit.

Neogen® Diluente (5X)	Um frasco com 50 mL de Diluente 5X.	Diluir 1/5 imediatamente antes do uso para fazer uma solução de uso 1X.	2-8°C	A Neogen Solução Diluente 5X fica estável até a data de validade do kit.
Neogen® Solução de Enxágue (20X)	Um frasco com 50 mL solução de enxágue 20X.	Diluir 1/20 para fazer uma solução de uso 1X.	2 a 8°C tanto para solução de uso 1X quanto para o concentrado de solução de enxágue 20X.	A Neogen Solução de Enxágue 20X fica estável até a data de validade do kit. A Solução de Enxágue 1X fica estável pelo menos por uma semana após o preparo.
Neogen® Tampão de Extração E26 (4X)	Um frasco com 120 mL de tampão de extração 4X.	Diluir 1/4 para fazer uma solução de uso 1X. A solução de uso deve ser aquecida a 50-60°C antes do uso.	2 a 8°C tanto para a solução de uso 1X quanto para o concentrado Neogen Tampão de Extração 4X.	O Tampão de Extração 1X e o Neogen Tampão de Extração 4X ficam estáveis até a data de validade do kit.
Neogen® Solução de Substrato Cromogênico	Um frasco com 12 mL de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB).	Pronto para usar.	2 a 8°C no escuro.	Proteja da luz. A Neogen Solução de Substrato Cromogênico fica estável até a data de validade do kit.
Neogen® Solução de Bloqueio	Um frasco com 12 mL de ácido sulfúrico a 0,3 M.	Pronto para usar.	2-8°C	A Neogen Solução de bloqueio fica estável até a data de validade do kit.

Materiais não fornecidos no kit:

- Pipetas de precisão e ponteiras para coleta de 10 a 100 µL
- Tubos de teste
- Lavadora/aspirador de placa de microtitulação
- Água destilada ou deionizada
- Leitora de placa de microtitulação
- Equipamento laboratorial variado para a preparação de soluções reagentes e tampão
- Temporizador
- Vórtice
- Banho-maria agitador ou incubadora agitadora
- Agitador orbital

Segurança

O usuário deve ler, entender e seguir todas as informações de segurança nas instruções para o Neogen Kit ELISA para Proteína de Molusco. Guarde as instruções de segurança para referência futura.

⚠ **AVISO:** Indica uma situação de perigo que, se não evitada, pode resultar em morte ou ferimentos graves e/ou danos materiais.

RECOMENDAÇÃO: Indica uma situação potencialmente perigosa que, se não evitada, pode resultar em danos materiais.

⚠ AVISO

Para reduzir os riscos associados com exposição a produtos químicos:

- Descarte de acordo com os padrões e regulamentos da indústria local/regional/nacional em vigor.
- O usuário deve treinar o seu pessoal em técnicas de teste adequadas atuais; por exemplo, Boas Práticas Laboratoriais[1] ou ISO/IEC 17025[2].
- Sempre siga práticas laboratoriais de segurança padrão, incluindo o uso adequado de vestuário de proteção e proteção visual ao manusear reagentes.
- Evite o contato com a pele da Neogen Solução de bloqueio, consulte a ficha de dados de segurança para obter informações adicionais de segurança.

Para reduzir os riscos associados a resultados falso-negativos que levem à liberação do produto contaminado:

- Armazene o Neogen Kit ELISA para Proteína de Molusco conforme indicado na embalagem e nas instruções do produto.
- Utilize o Neogen Kit ELISA para Proteína de Molusco para amostras de alimentos e ambiente que foram validadas internamente ou por terceiros.
- Siga o protocolo e realize os testes exatamente conforme especificado nas instruções do produto.
- A Neogen não documentou o uso do Neogen Kit ELISA para Proteína de Molusco em setores diferentes de alimentos e bebidas. Por exemplo, a Neogen não documentou este produto para testar amostras farmacêuticas, de cosméticos, clínicas ou veterinárias.

Para reduzir os riscos associados a resultados inexatos que levem à liberação do produto contaminado:

- Sempre utilize o Neogen Kit ELISA para Proteína de Molusco até a data de validade.
- Sempre prepare as soluções de uso utilizando os reagentes concentrados do Neogen Kit ELISA para Proteína de Molusco em temperatura entre 20 e 25°C.
- Não congele o Neogen Concentrado Padrão de Proteína de Molusco.
- Se a solução de substrato cromogênico ficar azul, não a utilize. Siga Boas Práticas Laboratoriais[1] para evitar contaminação cruzada da Neogen Solução de Substrato Cromogênico.
- Neogen® kits de Proteínas Alergênicas não são destinados para a detecção de proteínas hidrolisadas.
- Os produtos Neogen® Kits Rápidos para Proteínas Alergênicas são projetados para detecção de proteínas de alimentos processados após a solubilização destas proteínas no Neogen® Tampão de Extração. Alguns métodos de processamento de alimentos podem limitar a detecção das proteínas alvo.
- Alguns processamentos de alimentos podem afetar a detecção de proteínas alergênicas utilizando os produtos Neogen® Kits Rápidos para Proteínas Alergênicas. Os usuários devem verificar se o método é apropriado para atender os requerimentos do usuário.

RECOMENDAÇÃO

Para reduzir os riscos de resultados imprecisos:

- A estabilidade da amostra após extrações não foi avaliada. O procedimento ELISA deve ser realizado logo após a extração da amostra.
- Manuseie os Neogen Padrões de Proteína de Molusco seguindo Boas Práticas Laboratoriais[1] para prevenir a contaminação cruzada das amostras.

Consulte a Ficha de dados de segurança para obter mais informações.

Para informações sobre a documentação de desempenho do produto, visite nosso site www.neogen.com ou entre em contato com nosso representante Neogen ou distribuidor local.

Responsabilidade do usuário

Os usuários são responsáveis por se familiarizarem com as instruções e informações do produto. Acesse nosso website em **www.neogen.com**, ou contate o seu representante ou distribuidor local da Neogen para obter mais informações.

Assim como em todos os métodos usados para análise de alimentos, a matriz de teste pode influenciar os resultados. Ao selecionar qualquer método de teste, é importante considerar que fatores externos, como métodos de amostragem, protocolos de teste, preparo de amostras, manipulação e a técnica de laboratório utilizada, podem influenciar nos resultados. A amostra do alimento, em si, pode influenciar os resultados.

É responsabilidade do usuário selecionar qualquer método de teste ou produto para avaliar um número suficiente de amostras que satisfaça o usuário cujo método de teste escolhido atenda o critério do usuário.

Também é de responsabilidade do usuário determinar se o método de teste e os resultados satisfazem as exigências de seus clientes ou fornecedores.

Como em qualquer outro método, os resultados obtidos com qualquer produto da Neogen Food Safety não constituem uma garantia da qualidade das matrizes ou processos com eles testados.

Limitação de Garantia/Recursos Limitados

A NEOGEN REJEITA TODOS OS TERMOS EXPRESSOS E IMPLÍCITOS DE GARANTIA, MAS SEM EXCLUSIVIDADE, QUAISQUER GARANTIAS DE COMERCIALIZAÇÃO OU DE ADEQUAÇÃO PARA UM DETERMINADO USO. Se ficar provado que qualquer produto da Neogen Food Safety encontra-se defeituoso, a Neogen ou seu distribuidor autorizado procederá à respectiva substituição ou, se assim o decidir, restituirá o dinheiro da compra do produto. Estes são os seus únicos termos de recurso. Entre em contato com seu representante da Neogen ou distribuidor autorizado da Neogen para qualquer dúvida adicional.

Limitação de responsabilidade da Neogen

A NEOGEN NÃO SERÁ RESPONSÁVEL POR QUAISQUER DANOS, SEJAM DIRETOS, INDIRETOS, ESPECIAIS, ACIDENTAIS OU SUBSEQUENTES, INCLUINDO, MAS SEM EXCLUSIVIDADE, A PERDA DE LUCROS. Exceto quando for proibido por lei, em nenhuma circunstância nem ao abrigo seja de que teoria jurídica for, deverá a responsabilidade da Neogen exceder o preço de compra dos produtos supostamente defeituosos.

Armazenamento e descarte

Armazene os conteúdos do Neogen Kit ELISA para Proteína de Molusco entre 2 e 8°C. Não congele. Armazene soluções de uso diluídas conforme descrito na Tabela 1.

Os componentes do Neogen Kit ELISA para Proteína de Molusco não devem ser utilizados após a data de validade. A data de validade e o número do lote estão anotados no rótulo externo da caixa.

Descarte de acordo com os padrões e regulamentos da indústria local/regional/nacional em vigor.

Instruções de uso

Siga todas as instruções com atenção. Caso contrário, pode haver resultados imprecisos.

Preparação do Reagente

Coloque todos os reagentes na temperatura ambiente (20 a 25°C) antes de utilizá-los. Utilize equipamentos laboratoriais limpos para diluir e armazenar soluções de uso.

a. Neogen Tampão de Extração

Para preparar o Tampão de Extração 1X, adicione uma parte do Neogen Tampão de Extração (4X) e dilua em três partes de água deionizada e destilada. Pré-aqueça o Tampão de Extração (1X) entre 50 e 60°C em banho-maria ou incubadora de agitação antes de usar. Cada amostra precisa de 4,5 mL do Tampão de Extração 1X.

b. Neogen Solução Diluente

Para preparar a solução Diluente 1X, adicione uma parte do Neogen Diluente (5X) para quatro partes de água deionizada ou destilada. Cada amostra precisa de um total de 4,5 mL do Tampão de Extração 1X.

c. Neogen Solução de Enxágue

Para preparar a Solução de Enxágue 1X, adicione uma parte da Neogen Solução de Enxágue (20X) para 19 partes de água deionizada ou destilada. Cada Neogen Poço ELISA precisa de aproximadamente 2,5 mL de Solução de Enxágue 1X.

Observação: A formação de cristais na Neogen Solução de Enxágue (20X) pode ocorrer quando ela for armazenada entre 2 e 8°C. Para dissolver os cristais, aqueça a Neogen Solução de Enxágue (20X) entre 30 e 35°C em banho-maria ou incubadora antes de preparar a Solução de Enxágue (1X).

d. Neogen Conjugado com HRP e Molusco

Para preparar o Conjugado com HRP e Molusco 1X, adicione uma parte de Neogen Conjugado com HRP e Molusco (10X) e dilua em 9 partes de **Solução Diluente 1X.** Prepare imediatamente antes do uso. Cada Neogen Poço ELISA precisa de 100 µL de Conjugado com HRP e Molusco 1X.

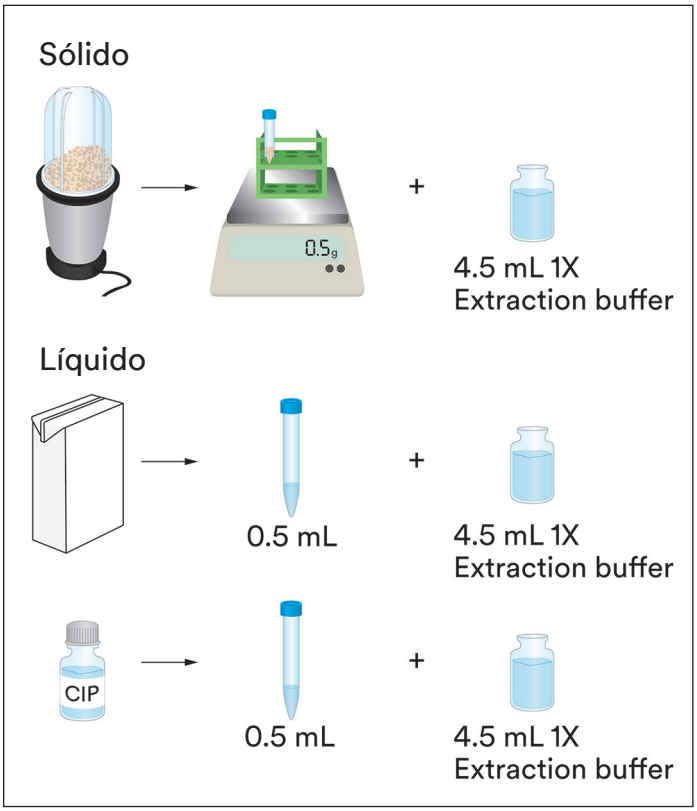
Preparo da amostra

Observação: Todas as amostras devem ser extraídas com o Tampão de Extração 1X pré-aquecido entre 50 e 60°C.

1.1 Prepare a amostra para extração da proteína em tubo de teste limpo ou descartável conforme descrito na Tabela 2.

Tabela 2. Preparo da amostra

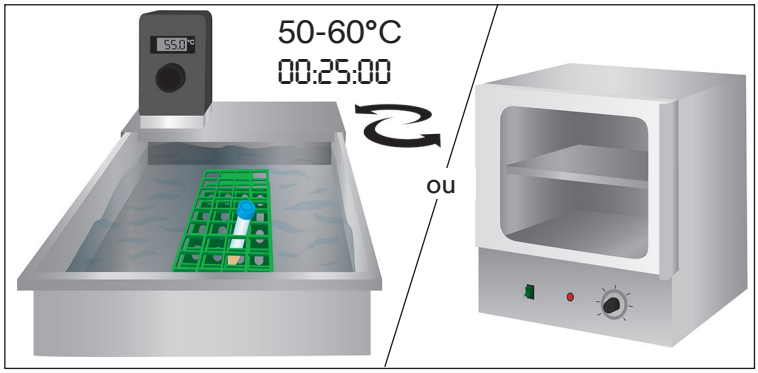
Matriz de amostra	Tamanho da amostra	Diluição (1/10)
Alimentos sólidos	0,5 ± 0,02 g	Adicione 4,5 ± 0,09 mL de Tampão de Extração 1X pré-aquecido
Alimentos líquidos	0,5 ± 0,01 mL	Adicione 4,5 ± 0,09 mL de Tampão de Extração 1X pré-aquecido
Última Água de Enxágue CIP	0,5 ± 0,01 mL	Adicione 4,5 ± 0,09 mL de Tampão de Extração 1X pré-aquecido

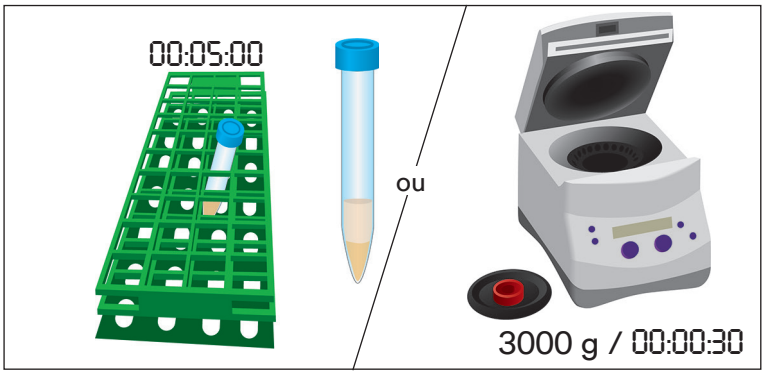


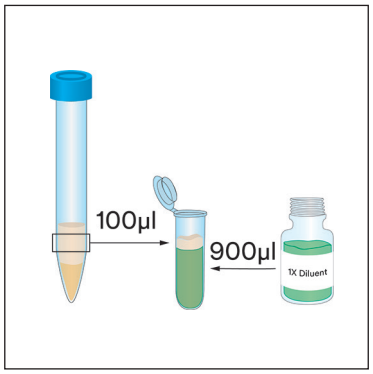
1.2 Incubar amostras diluídas em banho-maria agitador ou agitador de incubadora entre 50 e 60°C por 25 ± 1 minutos. Outra opção é deixar as amostras em banho-maria ou incubadora entre 50 e 60°C e agitar manualmente por 1 minuto a cada 5 minutos.

1.3 Após a incubação, centrifugue as amostras a 5000-7000 rpm (3000 x *g*) por 20 a 30 segundos para precipitar particulados ou permitir que eles decantem por 5 minutos em uma estante de tubo de ensaio.

1.4 Colete 100 µL da camada do meio (aquosa) e adicione-a a 900 µL de Solução Diluente (1X). Vórtice ou agite para misturar bem (Isso corresponde a uma diluição de 1/100 da amostra original).







Procedimento ELISA

2.1 Remova um Neogen Poço ELISA por amostra e/ou padrão e coloque os poços no suporte de poços. Devolva os Neogen Poços ELISA não utilizados para a sacola de alumínio, feche novamente e retorne para o armazenamento entre 2 e 8°C.

2.2 Utilizando o Neogen Concentrado Padrão de Proteína de Molusco, prepare um conjunto de quatro padrões diluídos em Solução Diluente (1X).

Número do Padrão	Concentração Padrão (ng/mL)	Volume do padrão adicionado ao Diluente 1X	Volume de solução Diluente 1X
4	270	10 µL de Neogen Concentrado Padrão de Proteína de Molusco	990 µL
3	90	200 µL do padrão número 4	400 µL
2	30	200 µL do padrão número 3	400 µL
1	10	200 µL do padrão número 2	400 µL
0	0	0	400 µL

2.3 Pipetar 100 µL de cada padrão nos Neogen Poços ELISA.

- Padrão 0 (Solução Diluente 1X)
- Padrão 1 (10 ng/mL) ppb
- Padrão 2 (30 ng/mL) ppb
- Padrão 3 (90 ng/mL) ppb
- Padrão 4 (270 ng/mL) ppb

2.4 Pipetar 100 µL da amostra extraída preparada no 1.4 em um Neogen Poço ELISA.

2.5 Incubar os Neogen Poços ELISA em um conjunto de agitador orbital a 400 rpm em temperatura ambiente (20 a 25°C) por 30 ± 2 minutos. Mantenha os poços cobertos e nivelados durante esta etapa para evitar a evaporação.

2.6 Após a incubação, aspire os conteúdos do Neogen Poços ELISA.

2.7 Preencha completamente cada Neogen Poço ELISA com Solução de Enxágue 1X e aspire. Se a lavagem for feita manualmente, inverta a placa e despeje/balance os conteúdos em um recipiente de descarte e bata os poços diretamente em papel absorvente para remover solução de enxágue residual. Repita esta etapa três vezes em quatro lavagens.

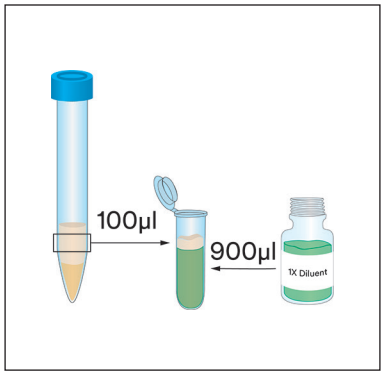
2.8 Pipetar 100 µL de Conjugado com HRP e Molusco 1X em cada Neogen Poço ELISA. Incubar em um agitador orbital a 400 rpm em temperatura ambiente por 10 ± 2 minutos. Mantenha a placa coberta no escuro e nivelada durante esta etapa.

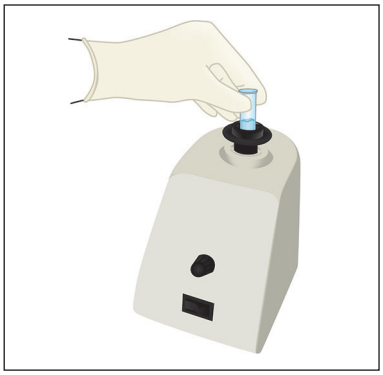
2.9 Repita as etapas 2.6 e 2.7 para completar um total de quatro enxágues com a Solução de Enxágue (1X).

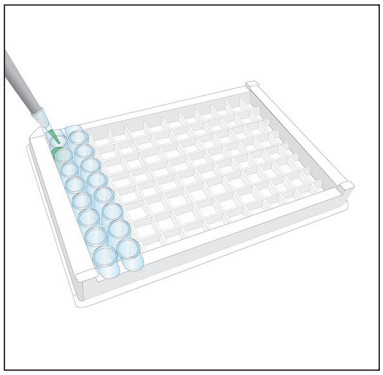
2.10 Pipetar 100 µL de Neogen Solução de Substrato Cromogênico (TMB) em cada Neogen Poço ELISA.

2.11 Incubar em um agitador orbital a 400 rpm em temperatura ambiente por 10 minutos. Mantenha a placa coberta no escuro e nivelada durante esta etapa.

2.12 Após incubação, adicione 100 µL de Neogen Solução de bloqueio em cada Neogen Poço ELISA e determine a absorção (a 450 nm) dentro de 30 minutos.

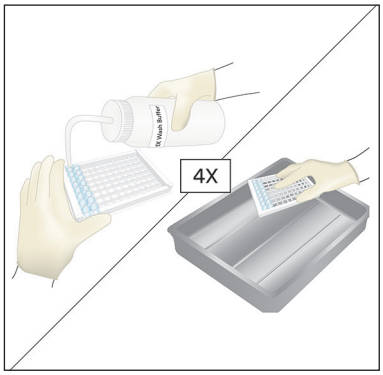


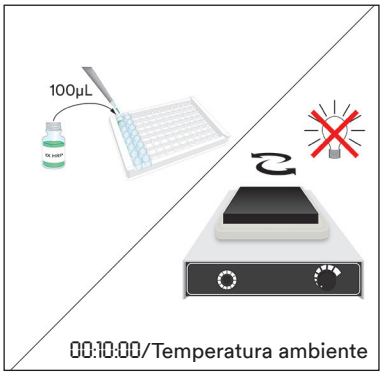




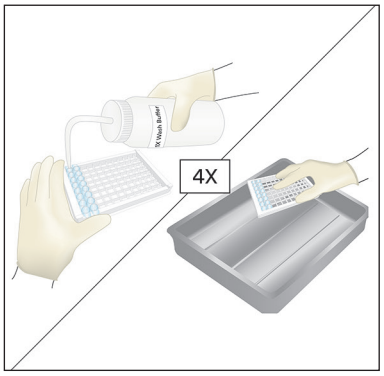


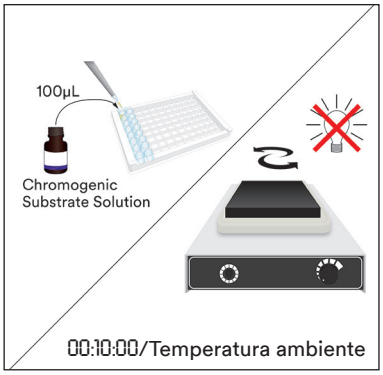


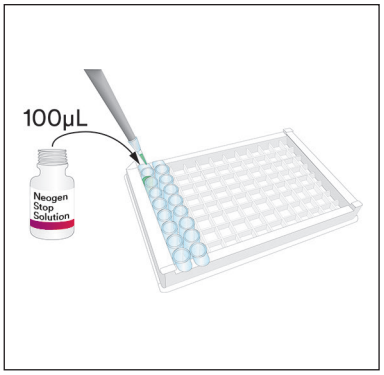


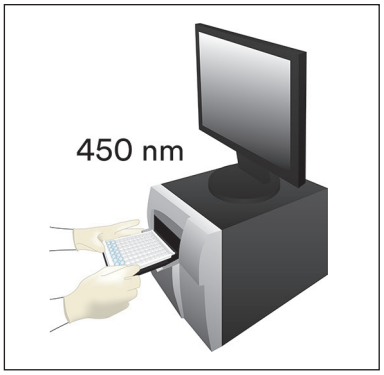












Análise de Resultados

3.1 Subtraia o valor médio de ruído de fundo para cada amostra (Leitura de absorção média da amostra menos a leitura média de absorção do padrão zero).

3.2 Utilizando um programa de computador capaz de gerar um ajuste de curva logística de quatro parâmetros, construir uma curva padrão traçando a concentração em ng/mL (ppb) no eixo X e a leitura de absorção para cada padrão correspondente no eixo Y. Uma segunda ordem polinomial (quadrática) ou outros ajustes de curva também podem ser usados; no entanto eles terão uma precisão menor de ajuste dos dados.

3.3 Calcular as concentrações da amostra fora da curva padrão; a unidade de resultado está em ng/mL (ppb). Em seguida, multiplique pelo fator de diluição da amostra para obter a concentração da amostra original. Por exemplo, se a diluição total da amostra for 1/100 e a concentração da amostra da curva padrão for 200 ng/mL (ppb), a concentração final da amostra será 200 ng/mL x 100 = 20.000 ng/mL (ppb) que é 20 µg/mL (ppm).

Características do Desempenho Mínimo

a. O Limite de Detecção (LOD) analítico é 7,2 ng/mL (ppb)

O limite de detecção é definido como a concentração mais baixa do alergênico em uma amostra de teste que pode ser distinguida de um branco de amostra em um nível de probabilidade especificado[3]. Ela é determinada ao adicionar três desvios padrão ao valor médio de densidade óptica de quarenta e oito replicatas do padrão zero e calcular a concentração correspondente.

b. O Limite de Quantificação (LOQ) é 1 ppm

O limite de quantificação é definido como o nível mais baixo do alergênico em uma amostra de teste que possa ser razoavelmente quantificada em um nível de precisão específico[3].

Precisão

Precisão Intra-ensaio	%CV média = <10	N=12
Precisão entre ensaios	%CV média = <10	N=12

Referências

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.

2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.

3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

Explicação dos Símbolos

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

NEOGEN®

Πληροφορίες προϊόντος

Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Μαλακίων

Ενζυμική δοκιμή ανοσοπροσρόφησης (ELISA) για την ποσοτική ανάλυση των πρωτεϊνών μαλακίων.

Περιγραφή Προϊόντος και Σκοπός Χρήσης

Το Neogen® Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Μαλακίων προορίζεται για την ανίχνευση των πρωτεϊνών μαλακίων σε νερό τελικής έκπλυσης συστημάτων επιτόπιου καθαρισμού (CIP, clean-in-place), περιβαλλοντικά δείγματα, συστατικά τροφίμων και επεξεργασμένα προϊόντα τροφίμων.

Το Neogen Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Μαλακίων χρησιμοποιεί δοκιμασία ELISA τύπου sandwich. Οι πρωτεΐνες μαλακίων που είναι παρούσες στο δείγμα αντιδρούν με τα αντισώματα αντι-μαλακίων, που έχουν απορροφηθεί στην επιφάνεια φρεατίων μικροτιτλοποιητή πολυστυρολίου. Μετά την απομάκρυνση των αδέσμευτων πρωτεϊνών με πλύση, προστίθενται αντισώματα αντι-μαλακίων συζευγμένα με υπεροξειδάση αγριοραπανιού (HRP). Αυτά τα σημασμένα με ένζυμο αντισώματα σχηματίζουν σύμπλοκα με την προηγουμένως δεσμευμένη πρωτεΐνη μαλακίων. Μετά από ένα δεύτερο βήμα πλύσης, το ένζυμο που είναι δεσμευμένο στον ανοσοπροσροφητή ανιχνεύεται μέσω της προσθήκης ενός χρωμογόνου υποστρώματος, 3,3’,5,5’-τετραμεθυλοβενζιδίνη (TMB). Η ανάπτυξη χρώματος από αυτήν την ενζυματική αντίδραση ποικίλλει ανάλογα με τη συγκέντρωση της πρωτεΐνης μαλακίων στο εξεταζόμενο δείγμα· συνεπώς, η απορρόφηση, στα 450 nm, είναι ένα μέτρο της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης μαλακίων στο εξεταζόμενο δείγμα. Η ποσότητα της πρωτεΐνης μαλακίων στο εξεταζόμενο δείγμα μπορεί να εξαχθεί με προεκβολή από την πρότυπη καμπύλη, η οποία δημιουργείται από πρότυπα γνωστής συγκέντρωσης και προσαρμόζεται ώστε να ληφθεί υπόψη η αραίωση του δείγματος.

Το Neogen Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Μαλακίων προορίζεται για χρήση σε περιβάλλον εργαστηρίου από επαγγελματίες εκπαιδευμένους στις εργαστηριακές τεχνικές. Η Neogen δεν έχει τεκμηριώσει τη χρήση αυτού του προϊόντος σε βιομηχανίες άλλες από εκείνες των τροφίμων και ποτών. Για παράδειγμα, η Neogen δεν έχει τεκμηριώσει αυτό το προϊόν για τον έλεγχο δειγμάτων φαρμακευτικών προϊόντων, καλλυντικών, κλινικών ή κτηνιατρικών δειγμάτων. Το Neogen Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Μαλακίων δεν έχει αξιολογηθεί με όλα τα πιθανά προϊόντα τροφίμων, διεργασίες επεξεργασίας τροφίμων και πρωτόκολλα δοκιμών.

Το Neogen Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Μαλακίων περιέχει 96 φρεάτια, που περιγράφονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Περιεχόμενα Κιτ

Είδος	Ταυτοποίηση	Προπαρασκευή (βλ. την ενότητα "Προπαρασκευή Αντιδραστηρίων" για λεπτομέρειες)	Αποθήκευση	Σταθερότητα
Neogen® Φρεάτια Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Μαλακίων	Ένα αλουμινένιο σακουλάκι με ένα πλακίδιο των 96 αφαιρούμενων, επικαλυμμένων με αντίσωμα φρεατίων.	Έτοιμο για χρήση.	2-8 °C σε σφραγισμένο αλουμινένιο σακουλάκι με ξηραντικό μέσο.	Επανασφραγίζετε το αλουμινένιο σακουλάκι που περιέχει τα αχρησιμοποίητα φρεάτια και το ξηραντικό μέσο. Φυλάσσετε στους 2-8 °C για να διατηρηθεί η σταθερότητα μέχρι την ημερομηνία λήξης του κιτ.

Neogen® Σύζευγμα Μαλακίων HRP (10X) 	Ένα φιαλίδιο με 1,5 mL 10X Αντισώματος Συζευγμένου με Υπεροξειδάση (HRP) (10X).	Αραιώστε 1/10 αμέσως πριν τη χρήση για να παρασκευάσετε 1X διάλυμα εργασίας.	2-8 °C σε σκοτεινό χώρο.	Το 10X σύζευγμα είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης του κιτ.
Neogen® Συμπύκνωμα Προτύπου Πρωτεΐνης Μαλακίων 	Ένα φιαλίδιο με γνωστή συγκέντρωση πρωτεΐνης μαλακίων.	Ανατρέξτε στην ενότητα "Διαδικασία ELISA" για την παρασκευή του προτύπου.	2-8 °C. Να μην καταψύχεται.	Το Neogen Συμπύκνωμα Προτύπου Πρωτεΐνης Μαλακίων είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης του κιτ.
Neogen® Αραιωτικό (5X) 	Μία φιάλη με 50 mL 5X Αραιωτικού.	Αραιώστε 1/5 αμέσως πριν τη χρήση για να παρασκευάσετε 1X διάλυμα εργασίας.	2-8 °C	Το 5X Neogen Διάλυμα Αραιωτικού είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης του κιτ.
Neogen® Διάλυμα Πλύσης (20X) 	Μία φιάλη με 50 mL 20X διαλύματος πλύσης.	Αραιώστε 1/20 για να παρασκευάσετε 1X διάλυμα εργασίας.	2-8 °C τόσο για το 1X διάλυμα εργασίας όσο και για το 20X συμπύκνωμα Διαλύματος Πλύσης.	Το 20X Neogen Διάλυμα Πλύσης είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης του κιτ. Το 1X Διάλυμα Πλύσης είναι σταθερό για τουλάχιστον μία εβδομάδα μετά την παρασκευή.
Neogen® Ρυθμιστικό Διάλυμα Εκχύλισης E26 (4X) 	Μία φιάλη με 120 mL 4X ρυθμιστικού διαλύματος εκχύλισης.	Αραιώστε 1/4 για να παρασκευάσετε 1X διάλυμα εργασίας. Το διάλυμα εργασίας θα πρέπει να θερμανθεί στους 50-60 °C πριν τη χρήση.	2-8 °C τόσο για το 1X διάλυμα εργασίας όσο και για το 4X συμπύκνωμα Neogen Ρυθμιστικού Διαλύματος Εκχύλισης.	Το 1X Ρυθμιστικό Διάλυμα Εκχύλισης και το 4X Neogen Ρυθμιστικό Διάλυμα Εκχύλισης είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης του κιτ.
Neogen® Διάλυμα Χρωμογόνου Υποστρώματος 	Μία φιάλη με 12 mL 3,3’,5,5’-τετραμεθυλ-βενζιδίνης (TMB).	Έτοιμο για χρήση.	2-8 °C σε σκοτεινό χώρο.	Προστατεύετε από το φως. Το Neogen Διάλυμα Χρωμογόνου Υποστρώματος είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης του κιτ.
Neogen® Διάλυμα Διακοπής 	Μία φιάλη των 12 mL με 0,3 M θειικό οξύ.	Έτοιμο για χρήση.	2-8 °C	Το Neogen Διάλυμα Διακοπής είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης του κιτ.

Υλικά που δεν παρέχονται στο κιτ:

- Πιπέτες ακριβείας και ρύγχη πιπετών για τη συλλογή 10 έως 100 µL
- Δοκιμαστικά σωληνάρια
- Συσκευή πλύσης/αναρρόφησης πλακιδίων μικροτίτλου
- Απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Πλακίδιο ανάγνωσης μικροτίτλου
- Διάφορα σκεύη εργαστηρίου για την παρασκευή των αντιδραστηρίων και των ρυθμιστικών διαλυμάτων
- Χρονόμετρο
- Αναδευτήρας τύπου vortex
- Ανακινούμενο υδατόλουτρο ή ανακινούμενος επωαστήρας
- Ανακινητήρας με ελλειψοειδή κίνηση

Ασφάλεια

Ο χρήστης πρέπει να διαβάσει, να κατανοήσει και να ακολουθεί όλες τις πληροφορίες ασφάλειας στις οδηγίες για το Neogen Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Μαλακίων. Φυλάξτε τις οδηγίες ασφάλειας για μελλοντική αναφορά.

⚠ **ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ:** Υποδεικνύει μια επικίνδυνη κατάσταση, η οποία, εάν δεν αποφευχθεί, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα θάνατο ή σοβαρό τραυματισμό ή/και καταστροφή ιδιοκτησίας.

ΥΠΟΔΕΙΞΗ: Υποδεικνύει μια δυνητικά επικίνδυνη κατάσταση, η οποία, εάν δεν αποφευχθεί, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα καταστροφή ιδιοκτησίας.

⚠ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με έκθεση σε χημικές ουσίες:

- Απορρίψτε σύμφωνα με τα τρέχοντα τοπικά/περιφερειακά/εθνικά/βιομηχανικά πρότυπα και κανονισμούς.
- Ο χρήστης πρέπει να εκπαιδεύσει το προσωπικό του στις τρέχουσες ορθές τεχνικές ελέγχου, για παράδειγμα, Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές[1] ή ISO/IEC 17025[2].
- Ακολουθείτε πάντα τις τυπικές εργαστηριακές πρακτικές ασφάλειας, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης της κατάλληλης προστατευτικής ενδυμασίας και προστασίας ματιών όταν χειρίζεστε αντιδραστήρια.
- Αποφύγετε την επαφή με το Neogen Διάλυμα Διακοπής, βλ. το Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας για πρόσθετες πληροφορίες ασφάλειας.

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα που οδηγούν στην αποδέσμευση μολυσμένου προϊόντος:

- Φυλάσσετε το Neogen Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Μαλακίων σύμφωνα με τις υποδείξεις στη συσκευασία και στις πληροφορίες προϊόντος.
- Χρησιμοποιείτε το Neogen Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Μαλακίων για δείγματα τροφίμων και περιβαλλοντικά δείγματα που έχουν επικυρωθεί εσωτερικά ή από ένα τρίτο μέρος.
- Ακολουθείτε το πρωτόκολλο και διενεργείτε τους ελέγχους ακριβώς όπως περιγράφεται στις πληροφορίες προϊόντος.
- Η Neogen δεν έχει τεκμηριώσει τη χρήση του Neogen Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Μαλακίων σε βιομηχανίες άλλες από εκείνες των τροφίμων και ποτών. Για παράδειγμα, η Neogen δεν έχει τεκμηριώσει αυτό το προϊόν για τον έλεγχο δειγμάτων φαρμακευτικών προϊόντων, καλλυντικών, κλινικών ή κτηνιατρικών δειγμάτων.

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με ανακριβή αποτελέσματα που οδηγούν στην αποδέσμευση μολυσμένου προϊόντος:

- Χρησιμοποιείτε πάντα το Neogen Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Μαλακίων μέχρι την ημερομηνία λήξης.
- Παρασκευάζετε πάντα τα διαλύματα εργασίας χρησιμοποιώντας τα συμπυκνωμένα αντιδραστήρια του Neogen Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Μαλακίων σε θερμοκρασία 20-25 °C.
- Μην καταψύχετε το Neogen Συμπύκνωμα Προτύπου Πρωτεΐνης Μαλακίων.
- Εάν το Διάλυμα Χρωμογόνου Υποστρώματος γίνει μπλε, μην το χρησιμοποιήσετε. Ακολουθείτε Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές[1] για να αποφύγετε την αλληλομόλυνση του Neogen Διαλύματος Χρωμογόνου Υποστρώματος.
- Τα Neogen® Κιτ Δοκιμασίας Αλλεργιογόνου Πρωτεΐνης δεν προορίζονται για την ανίχνευση υδρολυμένων πρωτεϊνών.
- Τα Neogen Κιτ Ελέγχου Αλλεργιογόνων Πρωτεϊνών έχουν σχεδιαστεί για να ανιχνεύουν πρωτεΐνες από επεξεργασμένα τρόφιμα μόλις διαλυτοποιηθούν σε Neogen Ρυθμιστικό Διάλυμα Εκχύλισης. Ορισμένες μέθοδοι επεξεργασίας τροφίμων ενδέχεται να περιορίσουν την ανίχνευση αυτών των πρωτεϊνών.

- Ορισμένες μέθοδοι επεξεργασίες τροφίμων μπορεί να επηρεάσουν την ανίχνευση πρωτεϊνών σε τρόφιμα με τα Neogen Κιτ Ελέγχου Αλλεργιογόνων Πρωτεϊνών. Οι χρήστες θα πρέπει να επαληθεύουν ότι η μέθοδος είναι κατάλληλη για τον σκοπό που χρησιμοποιείται καθώς και οτι ανταποκρίνεται στις απαιτήσεις του χρήστη.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με ανακριβή αποτελέσματα:

- Η σταθερότητα του δείγματος μετά τις εκχυλίσεις δεν έχει αξιολογηθεί. Η διαδικασία ELISA πρέπει να διενεργείται αμέσως μετά την εκχύλιση του δείγματος.
- Χειρίζεστε τα Neogen Πρότυπα Πρωτεΐνης Μαλακίων σύμφωνα με τις Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές[1] για να αποφύγετε την αλληλομόλυνση των δειγμάτων.

Συμβουλευτείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας για πρόσθετες πληροφορίες.

Για πληροφορίες σχετικά με την τεκμηρίωση της απόδοσης του προϊόντος, επισκεφθείτε την ιστοσελίδα www.neogen.com ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή διανομέα της Neogen.

Ευθύνη του χρήστη

Οι χρήστες είναι υπεύθυνοι να εξοικειωθούν με τις οδηγίες και τις πληροφορίες του προϊόντος. Επισκεφθείτε την ιστοσελίδα μας στο **www.neogen.com** ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή διανομέα της Neogen για περισσότερες πληροφορίες.

Όπως και με όλες τις δοκιμαστικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την ανάλυση τροφίμων, η μήτρα της δοκιμής μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα. Κατά την επιλογή μίας μεθόδου ελέγχου, είναι σημαντικό να αναγνωρίζετε ότι οι εξωτερικοί παράγοντες, όπως μέθοδοι δειγματοληψίας, πρωτόκολλα ελέγχου, προετοιμασία και χειρισμός δειγμάτων και η εργαστηριακή τεχνική μπορεί να επηρεάσουν τα αποτελέσματα. Το δείγμα τροφίμου μπορεί το ίδιο να επηρεάσει τα αποτελέσματα.

Κατά την επιλογή οποιασδήποτε δοκιμαστικής μεθόδου ή προϊόντος, αποτελεί ευθύνη του χρήστη η αξιολόγηση επαρκούς αριθμού δειγμάτων προκειμένου ο χρήστης να διασφαλίσει ότι η επιλεγμένη δοκιμαστική μέθοδος πληροί τα κριτήρια του χρήστη.

Αποτελεί επίσης ευθύνη του χρήστη να καθορίσει ότι όλες οι μέθοδοι δοκιμής και τα αποτελέσματα ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις των πελατών και των προμηθευτών του.

Όπως και με κάθε μέθοδο ελέγχου, τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από τη χρήση οποιουδήποτε προϊόντος Neogen Food Safety δεν συνιστούν εγγύηση της ποιότητας των μητρών ή των διαδικασιών που υποβάλλονται σε έλεγχο.

Περιορισμός εγγυήσεων/Περιορισμένη αποκατάσταση

ΕΚΤΟΣ ΕΑΝ ΔΗΛΩΝΕΤΑΙ ΡΗΤΑ ΣΕ ΜΙΑ ΕΝΟΤΗΤΑ ΓΙΑ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΗ ΕΓΓΥΗΣΗ ΣΤΗΝ ΑΤΟΜΙΚΗ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ, Η NEOGEN ΑΠΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΟΛΕΣ ΤΙΣ ΡΗΤΕΣ ΚΑΙ ΕΝΝΟΟΥΜΕΝΕΣ ΕΓΓΥΗΣΕΙΣ, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΑΛΛΑ ΟΧΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΑ, ΟΠΟΙΩΝΔΗΠΟΤΕ ΕΓΓΥΗΣΕΩΝ ΕΜΠΟΡΕΥΣΙΜΟΤΗΤΑΣ Ή ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΤΗΤΑΣ ΓΙΑ ΜΙΑ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ. Εάν οποιοδήποτε προϊόν Neogen Food Safety είναι ελαττωματικό, η Neogen ή ο εξουσιοδοτημένος διανομέας της, κατά την κρίση τους, θα αντικαταστήσουν ή επιστρέψουν την τιμή αγοράς του προϊόντος. Αυτές είναι οι αποκλειστικές σας αποκαταστάσεις. Επικοινωνήστε με τον αντιπρόσωπο της Neogen ή τον εξουσιοδοτημένο διανομέα της Neogen για περαιτέρω ερωτήσεις.

Περιορισμός της ευθύνης της Neogen

Η NEOGEN ΔΕΝ ΕΥΘΥΝΕΤΑΙ ΓΙΑ ΟΠΟΙΑΔΗΠΟΤΕ ΑΠΩΛΕΙΑ Ή ΖΗΜΙΑ, ΕΙΤΕ ΑΜΕΣΗ, ΕΜΜΕΣΗ, ΕΙΔΙΚΗ, ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΗ Ή ΑΠΟΘΕΤΙΚΗ ΖΗΜΙΑ, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ, ΑΛΛΑ ΟΧΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΑ, ΔΙΑΦΥΓΟΝΤΩΝ ΚΕΡΔΩΝ. Η ευθύνη της Neogen δεν υπερβαίνει σε καμία περίπτωση και υπό καμία νομική θεωρία την τιμή αγοράς του προϊόντος που εικάζεται ότι είναι ελαττωματικό.

Αποθήκευση και Απόρριψη

Φυλάσσετε τα περιεχόμενα του Neogen Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Μαλακίων στους 2-8 °C. Να μην καταψύχεται. Φυλάσσετε τα αραιωμένα διαλύματα εργασίας όπως περιγράφεται στον Πίνακα 1.

Τα συστατικά του Neogen Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Μαλακίων δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται μετά την ημερομηνία λήξης. Η ημερομηνία λήξης και ο αριθμός παρτίδας επισημαίνονται στην εξωτερική ετικέτα του κουτιού.

Απορρίψτε σύμφωνα με τα τρέχοντα τοπικά/περιφερειακά/εθνικά/βιομηχανικά πρότυπα και κανονισμούς.

Οδηγίες Χρήσης

Ακολουθείτε όλες τις οδηγίες προσεκτικά. Η μη τήρηση των οδηγιών μπορεί να οδηγήσει σε ανακριβή αποτελέσματα.

Προπαρασκευή Αντιδραστηρίων

Αφήστε όλα τα αντιδραστήρια να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου (20-25 °C) πριν τη χρήση. Χρησιμοποιείτε καθαρά σκεύη εργαστηρίου για να αραιώσετε και να αποθηκεύσετε τα διαλύματα εργασίας.

α. Neogen Ρυθμιστικό Διάλυμα Εκχύλισης

Για να παρασκευάσετε 1X Ρυθμιστικό Διάλυμα Εκχύλισης, προσθέστε ένα μέρος Neogen Ρυθμιστικού Διαλύματος Εκχύλισης (4X) και αραιώστε σε τρία μέρη απιονισμένου ή απεσταγμένου νερού. Προθερμάνετε το Ρυθμιστικό Διάλυμα Εκχύλισης (1X) στους 50-60 °C σε υδατόλουτρο ή ανακινούμενο επωαστήρα πριν τη χρήση. Κάθε δείγμα απαιτεί 4,5 mL 1X Ρυθμιστικού Διαλύματος Εκχύλισης.

β. Neogen Διάλυμα Αραιωτικού

Για να παρασκευάσετε διάλυμα 1X Αραιωτικού, προσθέστε ένα μέρος Neogen Αραιωτικού (5X) σε τέσσερα μέρη απιονισμένου ή απεσταγμένου νερού. Κάθε δείγμα απαιτεί ένα σύνολο 4,5 mL διαλύματος 1X Αραιωτικού.

γ. Neogen Διάλυμα Πλύσης

Για να παρασκευάσετε 1X Διάλυμα Πλύσης, προσθέστε ένα μέρος Neogen Διαλύματος Πλύσης (20X) σε 19 μέρη απιονισμένου ή απεσταγμένου νερού. Κάθε Neogen Φρεάτιο Δοκιμασίας ELISA απαιτεί περίπου 2,5 mL 1X Διαλύματος Πλύσης.

Σημείωση: Ο σχηματισμός κρυστάλλων στο Neogen Διάλυμα Πλύσης (20X) μπορεί να συμβεί εάν φυλαχθεί στους 2-8 °C. Για να διαλύσετε τους κρυστάλλους, θερμάνετε το Neogen Διάλυμα Πλύσης (20X) στους 30-35 °C σε υδατόλουτρο ή επωαστήρα πριν παρασκευάσετε το Διάλυμα Πλύσης (1X).

δ. Neogen Σύζευγμα Μαλακίων HRP

Για να παρασκευάσετε 1X Σύζευγμα Μαλακίων HRP, προσθέστε ένα μέρος Neogen Συζεύγματος Μαλακίων HRP (10X) και αραιώστε σε 9 μέρη διαλύματος **1X Αραιωτικού**. Παρασκευάστε αμέσως πριν τη χρήση. Κάθε Neogen Φρεάτιο Δοκιμασίας ELISA απαιτεί 100 μL 1X Συζεύγματος Μαλακίων HRP.

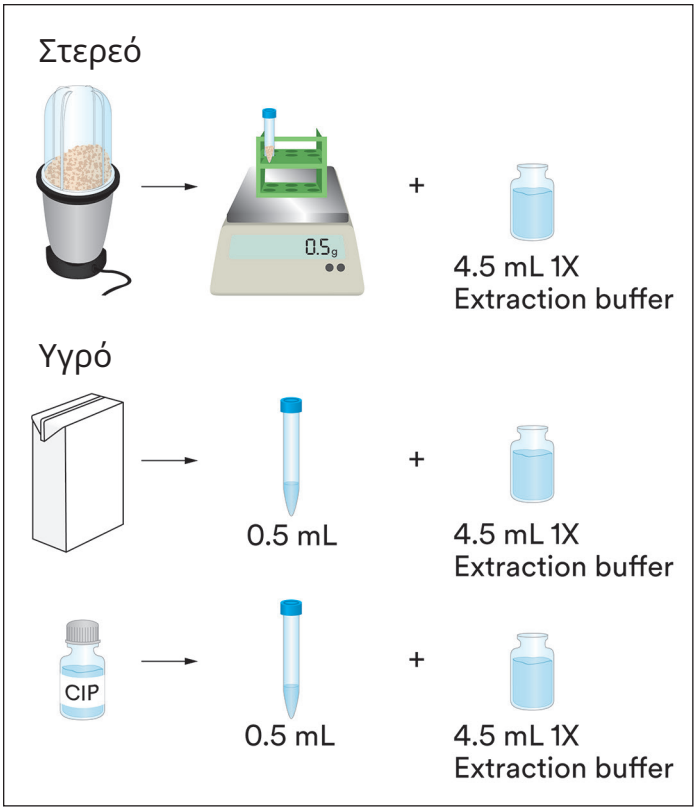
Προπαρασκευή δείγματος

Σημείωση: Όλα τα δείγματα πρέπει να εκχυλίζονται με 1X Ρυθμιστικό Διάλυμα Εκχύλισης προθερμασμένο στους 50-60 °C.

1.1 Παρασκευάστε το δείγμα για εκχύλιση πρωτεΐνης σε ένα καθαρό δοκιμαστικό σωληνάριο ή αναλώσιμο σωληνάριο όπως περιγράφεται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2. Προπαρασκευή δείγματος

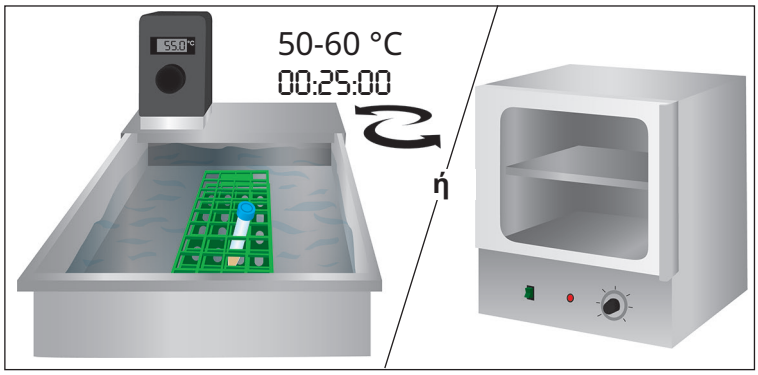
Πίνακας δειγμάτων	**Μέγεθος δείγματος**	**Αραίωση (1/10)**
Στερεά τρόφιμα	0,5±0,02 g	Προσθέστε 4,5±0,09 mL προθερμασμένου 1X Ρυθμιστικού Διαλύματος Εκχύλισης
Υγρά τρόφιμα	0,5±0,01 mL	Προσθέστε 4,5±0,09 mL προθερμασμένου 1X Ρυθμιστικού Διαλύματος Εκχύλισης
Νερό Τελικής Έκπλυσης Συστημάτων Επιτόπιου Καθαρισμού (CIP)	0,5±0,01 mL	Προσθέστε 4,5±0,09 mL προθερμασμένου 1X Ρυθμιστικού Διαλύματος Εκχύλισης

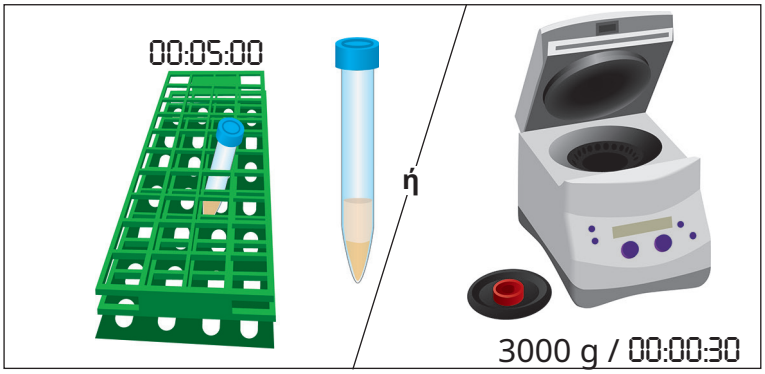


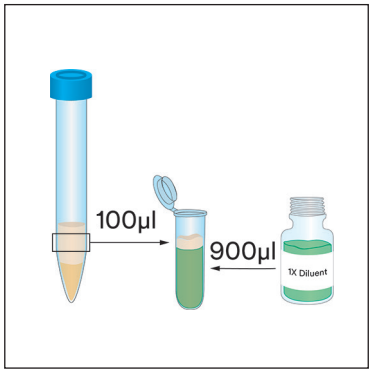
1.2 Επωάστε τα αραιωμένα δείγματα σε ανακινούμενο υδατόλουτρο ή ανακινούμενο επωαστήρα στους 50-60 °C για 25±1 λεπτά. Μια άλλη επιλογή είναι να αφήσετε τα δείγματα σε υδατόλουτρο ή επωαστήρα στους 50-60 °C και να τα ανακινείτε χειροκίνητα για 1 λεπτό κάθε 5 λεπτά.

1.3 Μετά την επώαση, φυγοκεντρίστε τα δείγματα σε 5000-7000 rpm (3000 x *g*) για 20 έως 30 δευτερόλεπτα σε σφαιριδιακά σωματίδια ή αφήστε τα να ηρεμήσουν για 5 λεπτά σε στατώ δοκιμαστικών σωληναρίων.

1.4 Συλλέξτε 100 µL από το μεσαίο (υδατικό) στρώμα και προσθέστε το σε 900 µL Διαλύματος Αραιωτικού (1X). Αναδεύστε σε αναδευτήρα τύπου vortex ή ανακινήστε για να αναμείξετε καλά. (Αυτό αντιστοιχεί σε αραίωση 1/100 του αρχικού δείγματος.)







Διαδικασία ELISA

2.1 Αφαιρέστε ένα Neogen Φρεάτιο Δοκιμασίας ELISA ανά δείγμα ή/και πρότυπο και τοποθετήστε τα φρεάτια στον συγκρατητήρα φρεατίων. Επιστρέψτε τα αχρησιμοποίητα Neogen Φρεάτια Δοκιμασίας ELISA στο αλουμινένιο σακουλάκι, επανασφραγίστε και θέστε εκ νέου σε φύλαξη στους 2-8 °C.

2.2 Χρησιμοποιώντας το Neogen Συμπύκνωμα Προτύπου Πρωτεΐνης Μαλακίων, παρασκευάστε ένα σετ τεσσάρων προτύπων αραιωμένων σε Διάλυμα Αραιωτικού (1X).

Αριθμός Προτύπου	Συγκέντρωση Προτύπου (ng/mL)	Όγκος προτύπου που προστέθηκε στο 1X Αραιωτικό	Όγκος του διαλύματος 1X Αραιωτικού
4	270	10 µL Neogen Συμπυκνώματος Προτύπου Πρωτεΐνης Μαλακίων	990 µL
3	90	200 µL προτύπου αριθμός 4	400 µL
2	30	200 µL προτύπου αριθμός 3	400 µL
1	10	200 µL προτύπου αριθμός 2	400 µL
0	0	0	400 µL

2.3 Μεταφέρετε με πιπέτα 100 µL κάθε προτύπου σε Neogen Φρεάτια Δοκιμασίας ELISA.

- Πρότυπο 0 (1X Διάλυμα Αραιωτικού)
- Πρότυπο 1 (10 ng/mL) ppb
- Πρότυπο 2 (30 ng/mL) ppb
- Πρότυπο 3 (90 ng/mL) ppb
- Πρότυπο 4 (270 ng/mL) ppb

2.4 Μεταφέρετε με πιπέτα 100 µL του εκχυλισμένου δείγματος που παρασκευάστηκε στο βήμα 1.4 σε ένα Neogen Φρεάτιο Δοκιμασίας ELISA.

2.5 Επωάστε τα Neogen Φρεάτια Δοκιμασίας ELISA σε ανακινητήρα με ελλειψοειδή κίνηση ρυθμισμένο σε 400 rpm σε θερμοκρασία δωματίου (20-25 °C) για 30±2 λεπτά. Διατηρήστε τα φρεάτια καλυμμένα και σε επίπεδη θέση κατά τη διάρκεια αυτού του βήματος για να αποτρέψετε την εξάτμιση.

2.6 Μετά την επώαση, αναρροφήστε τα περιεχόμενα των Neogen Φρεατίων Δοκιμασίας ELISA.

2.7 Γεμίστε τελείως κάθε Neogen Φρεάτιο Δοκιμασίας ELISA με 1X Διάλυμα Πλύσης και αναρροφήστε. Εάν η πλύση γίνεται χειροκίνητα, αναστρέψτε το πλακίδιο και ρίξτε/τινάξτε τα περιεχόμενα σε ένα δοχείο αποβλήτων και χτυπήστε τα φρεάτια απότομα επάνω σε απορροφητικό χαρτί για να αφαιρέσετε το υπολειπόμενο διάλυμα πλύσης. Επαναλάβετε αυτό το βήμα τρεις φορές για ένα σύνολο τεσσάρων πλύσεων.

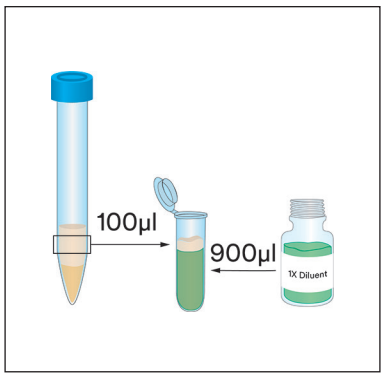
2.8 Μεταφέρετε με πιπέτα 100 µL 1X Συζεύγματος Μαλακίων HRP σε κάθε Neogen Φρεάτιο Δοκιμασίας ELISA. Επωάστε σε ανακινητήρα με ελλειψοειδή κίνηση ρυθμισμένο σε 400 rpm σε θερμοκρασία δωματίου για 10±2 λεπτά. Διατηρήστε το πλακίδιο καλυμμένο σε σκοτεινό χώρο και σε επίπεδη θέση κατά τη διάρκεια αυτού του βήματος.

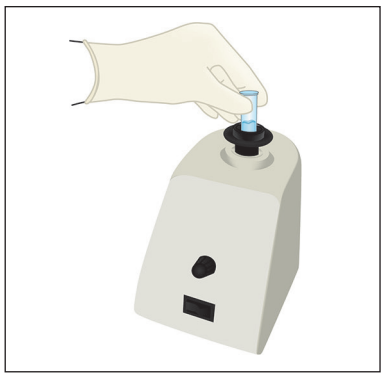
2.9 Επαναλάβετε τα βήματα 2.6 και 2.7 για να ολοκληρώσετε ένα σύνολο τεσσάρων πλύσεων με το Διάλυμα Πλύσης (1X).

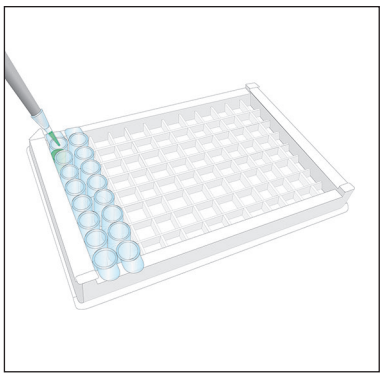
2.10 Μεταφέρετε με πιπέτα 100 µL Neogen Διαλύματος Χρωμογόνου Υποστρώματος (TMB) σε κάθε Neogen Φρεάτιο Δοκιμασίας ELISA.

2.11 Επωάστε σε ανακινητήρα με ελλειψοειδή κίνηση ρυθμισμένο σε 400 rpm σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Διατηρήστε το πλακίδιο καλυμμένο σε σκοτεινό χώρο και σε επίπεδη θέση κατά τη διάρκεια αυτού του βήματος.

2.12 Μετά την επώαση, προσθέστε 100 µL Neogen Διαλύματος Διακοπής σε κάθε Neogen Φρεάτιο Δοκιμασίας ELISA και προσδιορίστε την απορρόφηση (στα 450 nm) εντός 30 λεπτών.

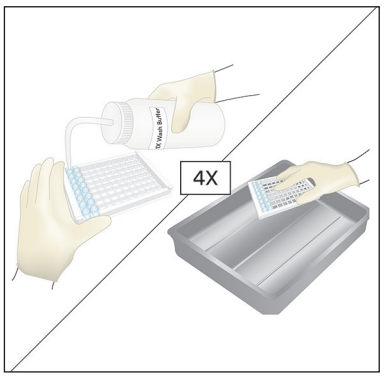


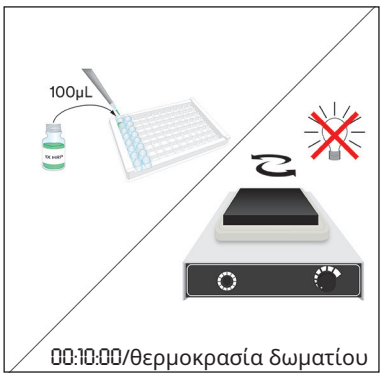




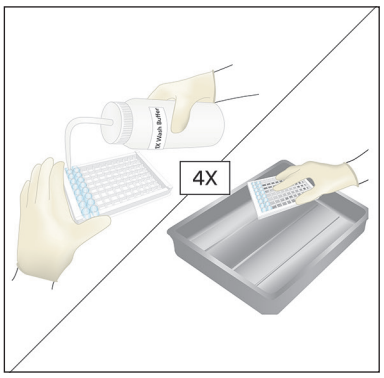


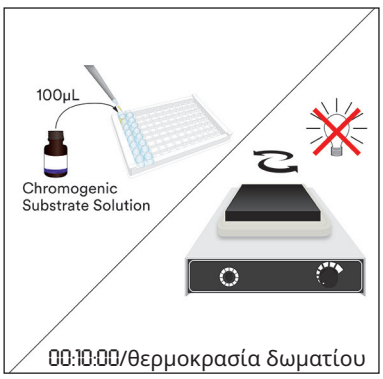


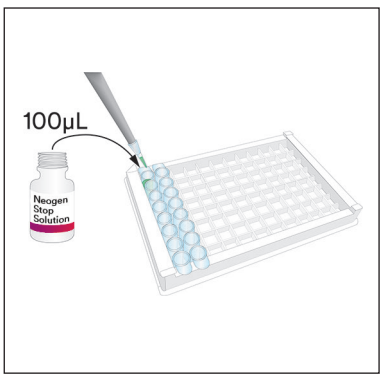


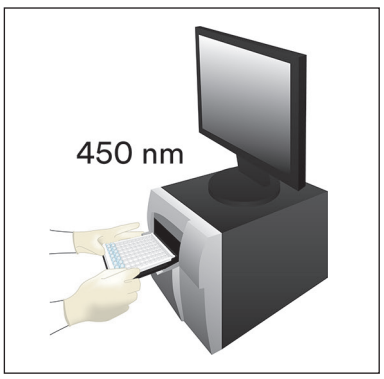












Ανάλυση αποτελεσμάτων

3.1 Αφαιρέστε τη μέση τιμή υποβάθρου για κάθε δείγμα (ένδειξη μέσης απορρόφησης του δείγματος μείον την ένδειξη μέσης απορρόφησης του μηδενικού προτύπου).

3.2 Χρησιμοποιώντας λογισμικό υπολογιστή ικανό να παράγει προσαρμογή λογιστικής καμπύλης τεσσάρων παραμέτρων, κατασκευάστε μια πρότυπη καμπύλη σχεδιάζοντας τη συγκέντρωση σε ng/mL (ppb) στον άξονα x και την ένδειξη απορρόφησης σε κάθε αντίστοιχο πρότυπο στον άξονα y. Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί προσαρμογή δεύτερης τάξης πολυωνυμικής (τετραγωνικής) ή άλλης καμπύλης· ωστόσο, θα είναι μια λιγότερο ακριβής προσαρμογή των δεδομένων.

3.3 Υπολογίστε τις συγκεντρώσεις δείγματος από την πρότυπη καμπύλη· η μονάδα του αποτελέσματος είναι ng/mL (ppb). Στη συνέχεια, πολλαπλασιάστε τον συντελεστή αραίωσης δείγματος για να λάβετε τη συγκέντρωση του αρχικού δείγματος. Για παράδειγμα, εάν η συνολική αραίωση του δείγματος είναι 1/100, και η συγκέντρωση δείγματος της πρότυπης καμπύλης είναι 200 ng/mL (ppb), η τελική συγκέντρωση του δείγματος είναι 200 ng/mL x 100 = 20.000 ng/mL (ppb), το οποίο είναι 20 µg/mL (ppm).

Ελάχιστα Χαρακτηριστικά Απόδοσης

α. Το Όριο Ανίχνευσης (LOD) της ανάλυσης είναι 7,2 ng/mL (ppb)

Το όριο ανίχνευσης ορίζεται ως η χαμηλότερη συγκέντρωση του αλλεργιογόνου στο εξεταζόμενο δείγμα που μπορεί να διακριθεί από ένα αληθές τυφλό δείγμα σε καθορισμένο επίπεδο πιθανότητας[3]. Προσδιορίζεται προσθέτοντας τρεις τυπικές αποκλίσεις στην τιμή μέσης οπτικής πυκνότητας σαράντα οκτώ επαναλήψεων του μηδενικού προτύπου και υπολογίζοντας την αντίστοιχη συγκέντρωση.

β. Το Όριο Ποσοτικού Προσδιορισμού (LOQ) είναι 1 ppm

Το όριο ποσοτικού προσδιορισμού ορίζεται ως το χαμηλότερο επίπεδο του αλλεργιογόνου σε ένα εξεταζόμενο δείγμα που μπορεί να ποσοτικοποιηθεί εύλογα σε ένα συγκεκριμένο επίπεδο πιστότητας[3].

Ακρίβεια

Ακρίβεια εντός δοκιμασίας	Μέσος όρος %CV = <10	N=12
Ακρίβεια μεταξύ δοκιμασιών	Μέσος όρος %CV = <10	N=12

Βιβλιογραφία

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

Επεξήγηση των Συμβόλων

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

NEOGEN

Informacje o produkcie

Zestaw ELISA do wykrywania białek obecnych w mięczakach

Test immunoenzymatyczny (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) do analizy ilościowej białek mięczaka.

Opis i przeznaczenie produktu

Neogen® Zestaw ELISA do wykrywania białek obecnych w mięczakach jest przeznaczony do wykrywania obecności białek mięczaka w wodzie pochodzącej z ostatniego etapu płukania w systemie CIP (Clean-in-place), próbkach środowiskowych, surowcach i w żywności przetworzonej.

W Neogen Zestawie ELISA do wykrywania białek obecnych w mięczakach wykorzystywana jest metoda Sandwich ELISA. Białka mięczaka obecne w próbce reagują z przeciwciałem przeciwko mięczakom zaabsorbowanym na powierzchni studzienek do mikromiareczkowania z polistyrenu. Po usunięciu niezwiązanych białek przez wypłukanie dodaje się przeciwciała przeciwko mięczakom sprzężone z peroksydazą chrzanową (HRP). Takie znakowane enzymem przeciwciała tworzą kompleksy z wcześniej związanym białkiem mięczaka. Po zakończeniu drugiego etapu płukania enzym wiąże się z immunosorbentem przez dodanie substratu chromogenicznego, 3,3',5,5'-tetrametylobenzydyną (TMB). Kolor powstały w wyniku tej reakcji enzymatycznej jest bezpośrednio związany ze stężeniem białek mięczaka w badanej próbce; w związku z tym absorbancja na poziomie 450 nm stanowi miarę stężenia białek mięczaka w badanej próbce. Ilość białek mięczaka w badanej próbce można wyekstrapolować ze standardowej krzywej utworzonej ze standardów znanego stężenia i dostosowanej w sposób uwzględniający rozcieńczenie próbki.

Neogen Zestaw ELISA do wykrywania białek obecnych w mięczakach jest przeznaczony do stosowania w środowisku laboratoryjnym przez specjalistów stosownie przeszkolonych w zakresie praktyk laboratoryjnych. Firma Neogen nie udokumentowała zastosowania tego produktu w gałęziach przemysłu innych niż żywność i napoje. Przykładowo firma Neogen nie udokumentowała zastosowania tego produktu do badania próbek leków, kosmetyków, próbek klinicznych ani weterynaryjnych. Neogen Zestaw ELISA do wykrywania białek obecnych w mięczakach nie został zwalidowany w odniesieniu do wszystkich możliwych produktów spożywczych, procesów przetwarzania żywności i protokołów testowych.

Neogen Zestaw ELISA do wykrywania białek obecnych w mięczakach zawiera 96 studzienek, które opisano w Tabeli 1.

Tabela 1. Składniki zestawu

Element	Charakterystyka	Sposób przygotowania (szczegółowe informacje można znaleźć w sekcji Sposób przygotowania reagentów)	Przechowywanie	Stabilność
Neogen® Studzienki do oznaczania białek mięczaka metodą ELISA	Jeden woreczek foliowy z płytką zawierającą 96 studzienek pokrytych przeciwciałami.	Gotowe do użycia.	2–8°C w szczelnie zamkniętym woreczku foliowym ze środkiem pochłaniającym wilgoć.	Ponownie uszczelnić woreczek foliowy zawierający niewykorzystane studzienki oraz środek pochłaniający wilgoć. Przechowywać w temp. 2–8°C, utrzymując stabilność aż do terminu ważności zestawu.

Neogen® Koniugat HRP do oznaczania mięczaków (10X) 	Jedna fiolka zawierająca 1,5 ml przeciwciał sprzężonych z peroksydazą chrzanową (HRP) 10X.	Przed użyciem należy niezwłocznie rozcieńczyć w stosunku 1/10, tworząc roztwór roboczy 1X.	2–8°C w ciemnym miejscu.	Koniugat 10X zachowuje stabilność aż do terminu ważności zestawu.
Neogen® Standardowy koncentrat do oznaczania białek mięczaka 	Jedna fiolka o znanym stężeniu białek mięczaka.	Informacje na temat standardowego sposobu przygotowania można znaleźć w sekcji Procedura ELISA.	2–8°C. Nie zamrażać.	Neogen Standardowy koncentrat do oznaczania białek mięczaka zachowuje stabilność aż do terminu ważności zestawu.
Neogen® Rozcieńczalnik (5X) 	Jedna butelka zawierająca 50 ml rozcieńczalnika 5X.	Przed użyciem należy niezwłocznie rozcieńczyć w stosunku 1/5, tworząc roztwór roboczy 1X.	2–8°C	Neogen Roztwór rozcieńczający 5X zachowuje stabilność aż do terminu ważności zestawu.
Neogen® Roztwór myjący (20X) 	Jedna butelka zawierająca 50 ml roztworu myjącego 20X.	Rozcieńczyć w stosunku 1/20, tworząc roztwór roboczy 1X.	2–8°C zarówno w przypadku roztworu roboczego 1X, jak i koncentratu roztworu roboczego 20X.	Neogen Roztwór myjący 20X zachowuje stabilność aż do terminu ważności zestawu. Roztwór myjący 1X zachowuje stabilność przez okres co najmniej jednego tygodnia od momentu przygotowania.
Neogen® Bufor do ekstrakcji E26 (4X) 	Jedna butelka zawierająca 120 ml buforu do ekstrakcji 4X.	Rozcieńczyć w stosunku 1/4, tworząc roztwór roboczy 1X. Przed użyciem roztwór roboczy należy ogrzać do temp. 50–60°C.	2–8°C zarówno w przypadku roztworu roboczego 1X, jak i Neogen koncentratu buforu do ekstrakcji 4X.	Bufor do ekstrakcji 1X oraz Neogen Bufor rozcieńczalnika 4X zachowują stabilność aż do terminu ważności zestawu.
Neogen® Roztwór substratu chromogenicznego 	Jedna butelka zawierająca 12 ml 3,3',5,5'-tetrametylobenzydyny (TMB).	Gotowe do użycia.	2–8°C w ciemnym miejscu.	Chronić przed światłem. Neogen Roztwór substratu chromogenicznego zachowuje stabilność aż do terminu ważności zestawu.
Neogen® Roztwór zatrzymujący reakcję 	Jedna butelka zawierająca 12 ml kwasu siarkowego 0,3 M.	Gotowe do użycia.	2–8°C	Neogen Roztwór zatrzymujący reakcję zachowuje stabilność aż do terminu ważności zestawu.

Materiały niedostarczane wraz z zestawem:

- Pipety i końcówki pipet do pobierania od 10 do 100 µl
- Probówki testowe
- Podkładka/aspirator do płytki do mikromiareczkowania
- Woda destylowana lub dejonizowana
- Czytnik płytek do mikromiareczkowania
- Różne rodzaje sprzętu laboratoryjnego do przygotowania roztworów reagentów i buforów
- Licznik czasu
- Wytrząsarka typu Vortex
- Kąpiel wodna w wytrząsarce lub inkubator z wytrząsarką
- Wytrząsarka orbitalna

Bezpieczeństwo

Użytkownik powinien przeczytać, zrozumieć i przestrzegać wszystkich wskazówek bezpieczeństwa dotyczących Neogen Zestawu ELISA do wykrywania białek obecnych w mięczakach. Instrukcję bezpieczeństwa należy zachować do przyszłego wykorzystania.

⚠ OSTRZEŻENIE: Oznacza niebezpieczną sytuację, której skutkiem, w razie braku podjęcia środków zapobiegawczych, mogą być poważne obrażenia ciała lub śmierć i/lub uszkodzenia mienia.

WAŻNA INFORMACJA: Oznacza potencjalnie niebezpieczną sytuację, której skutkiem, w razie niepodjęcia środków zapobiegawczych, może być uszkodzenie mienia.

⚠ OSTRZEŻENIE

Aby zmniejszyć ryzyko związane z ekspozycją na chemikalia:

- Produkt należy utylizować zgodnie z aktualnymi lokalnymi/krajowymi/branżowymi normami i przepisami.
- Użytkownik musi zapewnić przeszkolenie swojego personelu w zakresie odpowiednich technik przeprowadzania testów; na przykład zasady Dobrej Praktyki Laboratoryjnej[1] lub ISO/IEC 17025[2].
- Należy zawsze przestrzegać standardowych laboratoryjnych praktyk bezpieczeństwa, łącznie z noszeniem odpowiedniej odzieży i okularów ochronnych przy pracy z reagentami.
- Należy unikać kontaktu skóry z Neogen Roztworem zatrzymującym reakcję. Dodatkowe informacje dotyczące bezpieczeństwa można znaleźć w karcie charakterystyki substancji.

Aby zmniejszyć ryzyko związane z występowaniem wyników fałszywie ujemnych prowadzących do dopuszczenia do obrotu produktów skażonych:

- Neogen Zestaw ELISA do wykrywania białek obecnych w mięczakach należy przechowywać w sposób podany na opakowaniu i w informacjach o produkcie.
- Neogen Zestaw ELISA do wykrywania białek obecnych w mięczakach należy stosować w odniesieniu do próbek żywności i próbek środowiskowych poddanych walidacji wewnętrznej lub przez niezależne organizacje.
- Należy postępować zgodnie z protokołem i wykonywać testy zgodnie z zaleceniami podanymi w Informacjach o produkcie.
- Firma Neogen nie udokumentowała zastosowania Neogen Zestawu ELISA do wykrywania białek obecnych w mięczakach w gałęziach przemysłu innych niż żywność i napoje. Przykładowo firma Neogen nie udokumentowała zastosowania tego produktu do badania próbek leków, kosmetyków, próbek klinicznych ani weterynaryjnych.

Aby zmniejszyć ryzyko związane z występowaniem niedokładnych wyników prowadzących do dopuszczenia do obrotu produktów zanieczyszczonych:

- Należy używać tylko Neogen Zestawu ELISA do wykrywania białek obecnych w mięczakach z ważnym terminem ważności.
- Roztwory robocze należy zawsze przechowywać przy użyciu stężonych reagentów Neogen Zestawu ELISA do wykrywania białek obecnych w mięczakach w temperaturze 20–25°C.
- Standardowego koncentratu do oznaczania białek mięczaka Neogen nie należy zamrażać.
- Jeśli kolor roztworu substratu chromogenicznego zmieni się na niebieski, nie należy go używać. W celu uniknięcia krzyżowego zanieczyszczenia Neogen Roztworu substratu chromogenicznego należy przestrzegać zasad Dobrej Praktyki Laboratoryjnej[1].
- Neogen® Allergen Protein Testing Kits nie są przeznaczone do wykrywania zhydrolizowanych białek.

- Zestawy Neogen Allergen Protein Kits są przeznaczone do wykrywania białek w przetworzonej żywności, po ich uprzednim rozpuszczeniu w buforze ekstrakcyjnym Neogen. Niektóre procesy przetwarzania żywności mogą ograniczać wykrywanie docelowych białek.
- Niektóre procesy przetwarzania żywności mogą wpływać na wykrywanie białek w próbkach żywności. Przy stosowaniu Zestawu Neogen Allergen Protein Kit użytkownik powinien zweryfikować, czy metoda jest odpowiednia do założonego celu i wymagań użytkownika.

WAŻNA INFORMACJA

Aby ograniczyć ryzyko związane z niedokładnym wynikiem:

- Stabilność próbki po ekstrakcjach nie została oceniona. Bezpośrednio po dokonaniu ekstrakcji próbki należy przeprowadzić procedurę ELISA.
- Aby zapobiec zanieczyszczeniu krzyżowemu standardowe roztwory do oznaczania białek mięczaka Neogen należy obsługiwać przy zastosowaniu Dobrych Praktyk Laboratoryjnych[1].

Aby uzyskać dodatkowe informacje, należy zapoznać się z kartą charakterystyki.

W celu uzyskania informacji lub dokumentacji na temat charakterystyki produktu zapraszamy do odwiedzenia strony www.neogen.com lub skontaktowania się z lokalnym przedstawicielem lub dystrybutorem firmy Neogen.

Obowiązki użytkownika

Użytkownicy są zobowiązani do zapoznania się z instrukcjami oraz informacjami o produkcie. W celu uzyskania dalszych informacji należy odwiedzić stronę internetową **www.neogen.com** lub skontaktować się z lokalnym przedstawicielem lub dystrybutorem firmy Neogen.

Jak ze wszystkimi metodami testów używanymi do analizy spożywczej, matryca testowa może wpłynąć na wyniki testu. Przy wyborze metody testowania należy pamiętać, że takie czynniki zewnętrzne, jak metody próbkowania, protokoły testowania, przygotowanie próbki, dalsze postępowanie i technika laboratoryjna mogą wpływać na uzyskiwane wyniki. Sama próbka spożywcza może wpłynąć na wyniki.

Użytkownik jest odpowiedzialny za wybranie takiej metody testu lub takiego produktu, by ocenić odpowiednią liczbę próbek i tak, by wybrana metoda spełniała wymagania użytkownika.

Obowiązkiem użytkownika jest również dopilnowanie, aby zastosowane metody testowania i uzyskane wyniki spełniały wymagania klienta i dostawcy.

Podobnie jak w przypadku każdej metody testowania, wyniki uzyskiwane za pomocą produktu firmy Neogen Food Safety nie stanowią gwarancji jakości testowanych macierzy lub procesów.

Ograniczenie gwarancji/Ograniczone środki zaradcze

JEŚLI NIE ZOSTAŁO TO WYRAŹNIE OKREŚLONE W ROZDZIALE DOT. OGRANICZONEJ GWARANCJI POJEDYNCZYCH OPAKOWAŃ PRODUKTÓW, FIRMA NEOGEN WYŁĄCZA ODPOWIEDZIALNOŚĆ WSZYSTKICH GWARANCJI DOMNIEMANYCH I DOROZUMIANYCH, W TYM MIĘDZY INNYMI, DOWOLNYCH GWARANCJI ZGODNOŚCI Z PRZEZNACZENIEM I PRZYDATNOŚCI DO OKREŚLONEGO CELU. W razie wad jakiegokolwiek produktu firmy Neogen Food Safety firma Neogen lub jej autoryzowany dystrybutor wymieni taki produkt lub, wedle własnego uznania, zwróci koszty zakupu tego produktu. Są to jedyne przysługujące środki zaradcze. W przypadku dalszych pytań prosimy o kontakt z przedstawicielem firmy Neogen lub autoryzowanym dystrybutorem firmy Neogen.

Ograniczenie odpowiedzialności firmy Neogen

FIRMA NEOGEN NIE BĘDZIE ODPOWIEDZIALNA ZA JAKIEKOLWIEK SZKODY ANI STRATY, ZARÓWNO BEZPOŚREDNIE, POŚREDNIE, SZCZEGÓLNE, UBOCZNE LUB NASTĘPCZE, W TYM MIĘDZY INNYMI ZA UTRACONE ZYSKI. W żadnym wypadku odpowiedzialność firmy Neogen przyznana na mocy prawa nie może przekroczyć ceny zakupu rzekomo wadliwego produktu.

Przechowywanie i utylizacja

Zawartość Neogen Zestawu ELISA do wykrywania białek obecnych w mięczakach należy przechowywać w temp. 2–8°C. Nie zamrażać. Rozcieńczone roztwory robocze należy przechowywać w sposób opisany w Tabeli 1.

Komponentów Neogen Zestawu ELISA do wykrywania białek obecnych w mięczakach nie należy używać po upływie terminu ważności. Termin ważności i numer partii podano na zewnętrznej etykiecie pudełka.

Produkt należy utylizować zgodnie z aktualnymi lokalnymi/krajowymi/branżowymi normami i przepisami.

Instrukcja użycia

Należy dokładnie przestrzegać wszystkich instrukcji. W przeciwnym razie wyniki mogą być niedokładne.

Sposób przygotowania reagentów

Przed zastosowaniem należy zapewnić temperaturę pokojową (20–25°C) wszystkich reagentów. Do rozcieńczania i przechowywania roztworów roboczych należy używać czystego sprzętu laboratoryjnego.

a. Neogen Bufor do ekstrakcji

W celu przygotowania buforu do ekstrakcji 1X należy dodać jedną część Neogen Buforu do ekstrakcji (4X) i rozcieńczyć ją w trzech częściach wody dejonizowanej lub destylowanej. Przed użyciem należy wstępnie ogrzać bufor do ekstrakcji (1X) do temp. 50–60°C w kąpieli wodnej lub inkubatorze wstrząsowym. Na każdą próbkę potrzebne jest 4,5 ml buforu do ekstrakcji 1X.

b. Neogen Roztwór rozcieńczający

W celu przygotowania roztworu rozcieńczającego 1X należy dodać jedną część Neogen rozcieńczalnika (5X) na cztery części wody dejonizowanej lub destylowanej. Na każdą próbkę potrzebne jest łącznie 4,5 ml roztworu rozcieńczającego 1X.

c. Neogen Roztwór myjący

W celu przygotowania roztworu myjącego 1X należy dodać jedną część Neogen roztworu myjącego (20X) na 19 części wody dejonizowanej lub destylowanej. Na każdą studzienkę Neogen ELISA potrzebne jest około 2,5 ml roztworu myjącego 1X.

Uwaga: W przypadku przechowywania Neogen roztworu myjącego (20X) w temperaturze 2–8°C może dojść do tworzenia się kryształków. W celu rozpuszczenia kryształków przed przygotowaniem roztworu myjącego (1X) należy ogrzać Neogen roztwór myjący (20X) do temp. 30–35°C w kąpieli wodnej lub inkubatorze.

d. Neogen Koniugat HRP do oznaczania mięczaków

W celu przygotowania koniugatu HRP do oznaczania mięczaków 1X należy dodać jedną część Neogen koniugatu HRP do oznaczania mięczaków (10X) i rozcieńczyć ją w 9 częściach **roztworu rozcieńczającego 1X**. Przygotować bezpośrednio przed użyciem. Na każdą studzienkę Neogen ELISA potrzebne jest 100 µl koniugatu HRP do oznaczania mięczaków 1X.

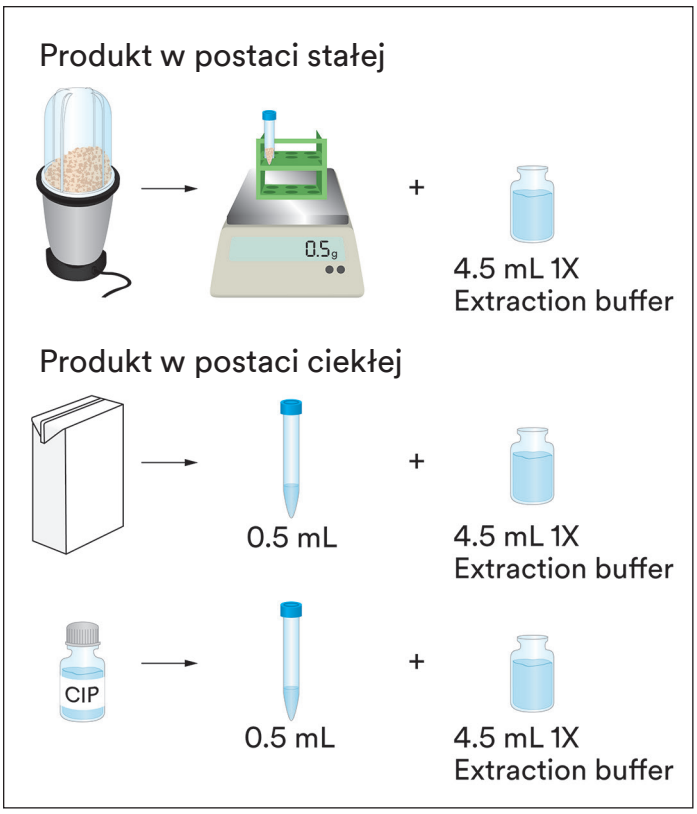
Przygotowanie próbek

Uwaga: Wszystkie próbki należy wyizolować przy użyciu buforu do ekstrakcji 1X wstępnie ogrzanego do temp. 50–60°C.

1.1 Przygotować próbkę do ekstrakcji białka w czystej probówce testowej lub jednorazowej probówce w sposób opisany w Tabeli 2.

Tabela 2. Przygotowanie próbek

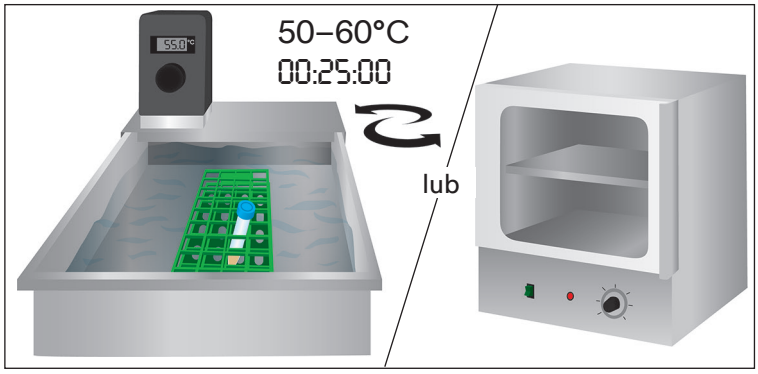
Macierz próbki	Wielkość próbki	Rozcieńczenie (1/10)
Produkty spożywcze w postaci stałej	0,5 ± 0,02 g	Dodać 4,5 ± 0,09 ml wstępnie ogrzanego buforu do ekstrakcji 1X
Produkty spożywcze w postaci ciekłej	0,5 ± 0,01 ml	Dodać 4,5 ± 0,09 ml wstępnie ogrzanego buforu do ekstrakcji 1X
Woda pochodząca z ostatniego etapu płukania systemu Clean-in-Place (CIP)	0,5 ± 0,01 ml	Dodać 4,5 ± 0,09 ml wstępnie ogrzanego buforu do ekstrakcji 1X

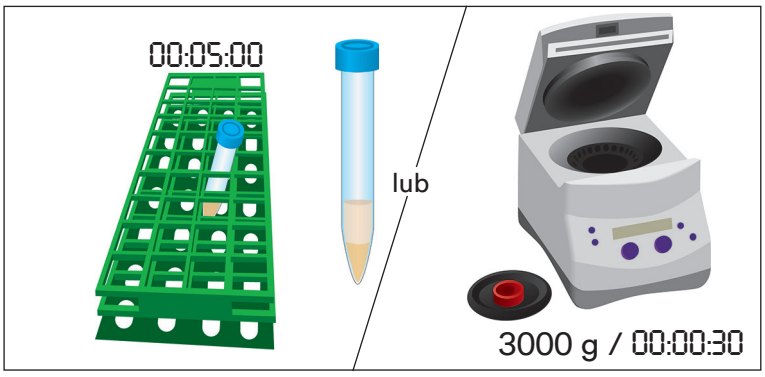


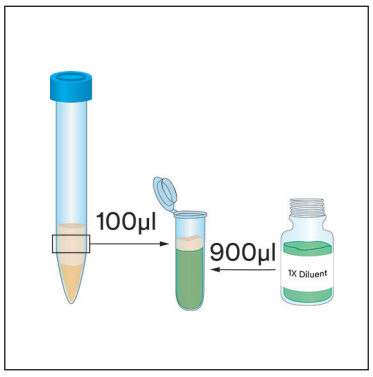
1.2 Inkubować rozcieńczone próbki we wstrząsowej kąpieli wodnej lub inkubatorze wstrząsowym w temp. 50–60°C przez 25 ± 1 minut. Inny sposób polega na pozostawieniu próbek w kąpieli wodnej lub inkubatorze w temp. 50–60°C i wstrząsaniu ręcznie przez 1 minutę co 5 minut.

1.3 Po zakończeniu inkubacji próbki należy wirować z prędkością 5000–7000 obr./min (3000 x *g*) przez od 20 do 30 sekund w celu wytrącenia cząsteczek lub pozostawić je do opadnięcia 5 minut w stojaku na probówki testowe.

1.4 Pobrać 100 µl ze środkowej (wodnej) warstwy i dodać je do 900 µl roztworu rozcieńczającego (1X). Odwirować lub wstrząsnąć w celu dokładnego zmieszania (odpowiada to rozcieńczeniu oryginalnej próbki w stosunku 1/100).







Procedura ELISA

2.1 Wyjąć jedną studzienkę ELISA Neogen na próbkę i/lub standardowy roztwór i umieścić studzienki w uchwycie na studzienki. Niewykorzystane studzienki ELISA Neogen należy umieścić z powrotem w foliowym woreczku i ponownie odłożyć w miejsce przechowywania w temp. 2–8°C.

2.2 Używając Neogen standardowego koncentratu do oznaczania białek mięczaka, przygotować zestaw czterech standardowych roztworów rozcieńczonych w roztworze rozcieńczalnika (1X).

Numer standardowego roztworu	Stężenie standardowego roztworu (ng/ml)	Objętość standardowego roztworu dodana do rozcieńczalnika 1X	Objętość roztworu rozcieńczalnika 1X
4	270	10 µl Neogen standardowego koncentratu do oznaczania białek mięczaka	990 µl
3	90	200 µl standardowego roztworu numer 4	400 µl
2	30	200 µl standardowego roztworu numer 3	400 µl
1	10	200 µl standardowego roztworu numer 2	400 µl
0	0	0	400 µl

2.3 Odpipetować 100 µl każdego standardowego roztworu do studzienek ELISA Neogen.

- Standardowy roztwór 0 (1X roztwór rozcieńczalnika)
- Standardowy roztwór 1 (10 ng/ml) ppb
- Standardowy roztwór 2 (30 ng/ml) ppb
- Standardowy roztwór 3 (90 ng/ml) ppb
- Standardowy roztwór 4 (270 ng/ml) ppb

2.4 Odpipetować 100 µl wyekstrahowanej próbki przygotowanej w kroku 1.4 do studzienki ELISA Neogen.

2.5 Inkubować studzienki ELISA Neogen w wytrząsarce orbitalnej ustawionej na 400 obr./min w temp. pokojowej (20–25°C) przez 30 ± 2 minut. Podczas tego etapu studzienki należy pozostawić przykryte, aby zapobiec odparowaniu.

2.6 Po zakończeniu inkubacji zaaspirować zawartość studzienek ELISA Neogen.

2.7 Całkowicie wypełnić każdą studzienkę ELISA Neogen roztworem myjącym 1X i zaaspirować go. W przypadku ręcznego płukania należy odwrócić płytkę i przelać/wytrząsnąć zawartość do pojemnika na odpady i mocno uderzyć w studzienki na papierze chłonnym, usuwając pozostałości roztworu myjącego. Powtórzyć ten etap trzykrotnie dla wszystkich czterech płukań.

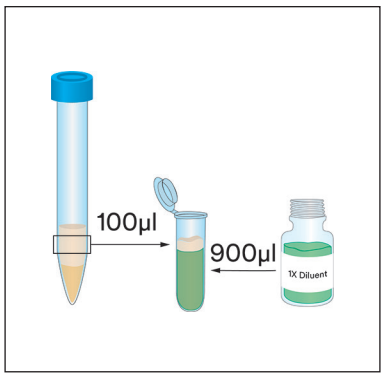
2.8 Odpipetować 100 µl koniugatu 1X HRP do oznaczania mięczaków do każdej studzienki ELISA Neogen. Inkubować w wytrząsarce orbitalnej ustawionej na 400 obr./min w temp. pokojowej przez 10 ± 2 minut. Podczas tego etapu płytka powinna być przykryta (brak dostępu światła) i wypoziomowana.

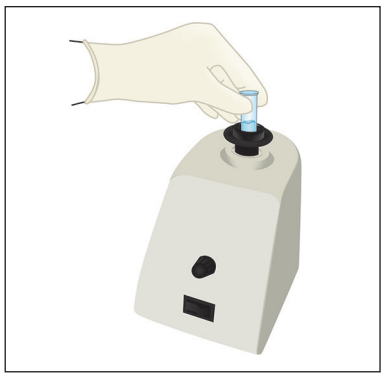
2.9 Powtórzyć kroki 2.6 i 2.7, przeprowadzając wszystkie cztery płukania przy użyciu roztworu myjącego (1X).

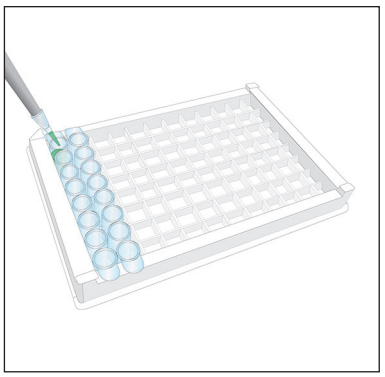
2.10 Odpipetować 100 µl Neogen Roztworu substratu chromogenicznego (TMB) do każdej studzienki ELISA Neogen.

2.11 Inkubować w wytrząsarce orbitalnej ustawionej na 400 obr./min w temp. pokojowej przez 10 minut. Podczas tego etapu płytka powinna być przykryta (brak dostępu światła) i wypoziomowana.

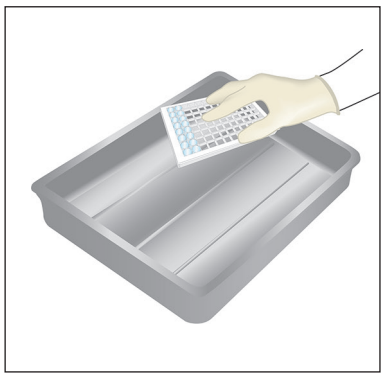
2.12 Po zakończeniu inkubacji dodać 100 µl Neogen Roztworu zatrzymującego reakcję do każdej studzienki ELISA Neogen i określić absorbancję (przy wartości 450 nm) w ciągu 30 minut.

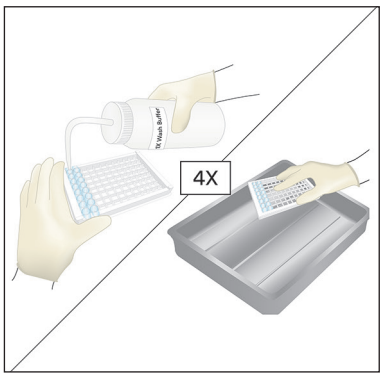


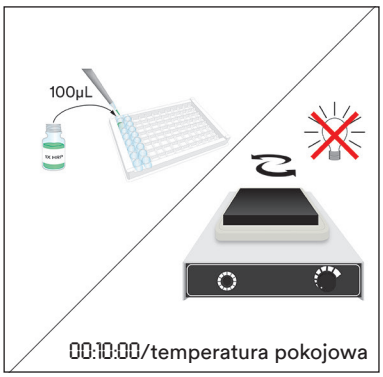


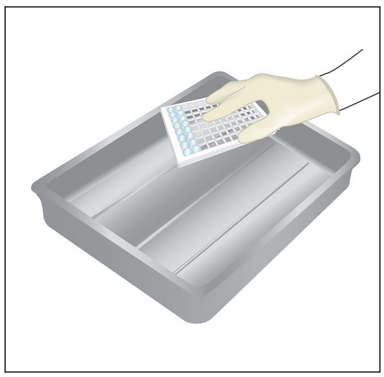


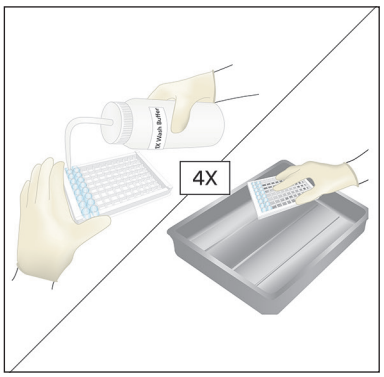


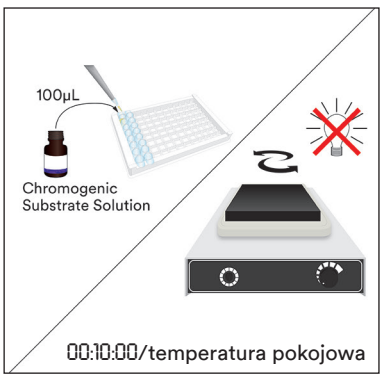


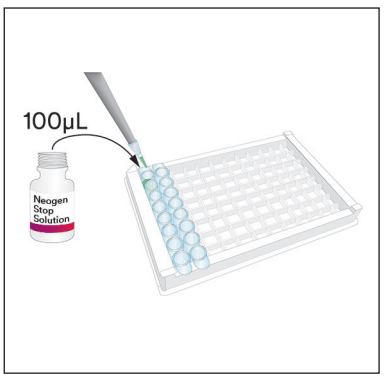


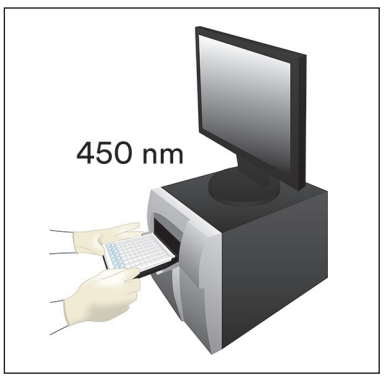












Analiza wyniku

3.1 Odjąć średnią wartość zakłóceń dla każdej próbki (średni odczyt absorbancji próbki minus średni odczyt absorbancji wzorca zerowego).

3.2 Za pomocą oprogramowania komputerowego umożliwiającego wygenerowanie dopasowania krzywej logistycznej czterech parametrów należy stworzyć krzywą roztworu standardowego przez przedstawienie stężenia w ng/ml (ppb) na osi x, a odczytu absorbancji dla każdego odpowiedniego roztworu standardowego na osi y. Można również wykorzystać wielomian drugiego stopnia (kwadratowy) lub inne dopasowania krzywej; będą one jednak stanowić mniej precyzyjne dopasowanie danych.

3.3 Obliczyć stężenia próbki krzywej roztworu standardowego; jednostka wyniku to ng/ml (ppb). Następnie należy pomnożyć wynik przez współczynnik rozcieńczenia próbki w celu uzyskania stężenia oryginalnej próbki. Przykładowo: jeśli całkowite rozcieńczenie próbki wynosi 1/100, a stężenie próbki krzywej roztworu standardowego wynosi 200 ng/ml (ppb), ostateczne stężenie próbki wynosi 200 ng/ml x 100 = 20 000 ng/ml (ppb), czyli 20 µg/ml (ppm).

Minimalne parametry użytkowe

a. Analityczna granica detekcji (LOD) wynosi 7,2 ng/ml (ppb).

Granicę detekcji określa się jako najniższe stężenie alergenu w próbce testowej, jakie można odróżnić od próbki rzeczywiście zerowej z konkretnym poziomem prawdopodobieństwa[3]. Określa się ją przez dodanie trzech odchyleń roztworu standardowego do średniej wartości gęstości optycznej czterdziestu ośmiu kopii wzorca zerowego i obliczenie odpowiedniego stężenia.

b. Granica kwantyfikacji (LOQ) wynosi 1 ppm.

Granicę kwantyfikacji określa się jako najniższe stężenie alergenu w próbce testowej, jakie można wyodrębnić w granicach rozsądku z konkretnym poziomem dokładności[3].

Dokładność

Dokładność wewnątrztestowa	Średnia %CV = <10	N=12
Dokładność międzytestowa	Średnia %CV = <10	N=12

Bibliografia

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

Objaśnienie symboli

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

Дата выпуска: 2024-01

NEOGEN®

Инструкции к препарату

ELISA набор (протеин моллюска)

Иммуноферментный анализ (ELISA) для количественной оценки протеинов моллюска.

Описание и предназначение продукта

Neogen® ELISA набор (протеин моллюска) предназначен для обнаружения протеинов моллюска в финальной воде при безразборной чистке (CIP), пробах из окружающей среды, пищевых ингредиентах и пищевых продуктах, подвергшихся технологической обработке.

Neogen ELISA набор (протеин моллюска) используется с применением сэндвич-техники. Присутствующие в пробе протеины моллюска взаимодействуют с антителами моллюска, поглощенными поверхностью полистироловых микротитрационных ячеек. После удаления свободных протеинов путем промывания добавляются антитела моллюска, конъюгированные с пероксидазой хрена (HRP). Эти меченные ферментом антитела образуют комплексные соединения с ранее связанным протеином моллюска. После второго этапа промывания обнаруживается фермент, связанный с иммуносорбентом, путем добавления хромогенного субстрата, 3,3’,5,5’-тетраметилбензидина (ТМБ). Изменение цвета вследствие этой ферментативной реакции происходит в прямой зависимости от концентрации протеина моллюска в исследуемой пробе. Таким образом, абсорбция при длине волны 450 нм является показателем концентрации протеина моллюска в исследуемой пробе. Количество протеина моллюска в исследуемой пробе можно экстраполировать по стандартной кривой, построенной на основании стандартных растворов известной концентрации и скорректированной в зависимости от степени разведения пробы.

Neogen ELISA набор (протеин моллюска) предназначен для использования в лабораторных условиях специалистами, которые прошли профессиональную подготовку по вопросам методов лабораторных исследований. Компания Neogen документально не подтверждала возможность использования этого продукта в других отраслях промышленности, кроме отрасли производства продуктов питания и напитков. Например, компания Neogen не подтверждала документально возможность использования этого продукта для тестирования фармацевтических, косметических, клинических или ветеринарных проб. Neogen ELISA набор (протеин моллюска) не оценивался со всеми возможными пищевыми продуктами, процессами обработки продуктов и протоколами анализа.

Neogen ELISA набор (протеин моллюска) содержит 96 ячеек, которые описаны в таблице 1.

Таблица 1. Компоненты комплекта

Элемент	Обозначение	Подготовка (см. подробнее в разделе «Подготовка реагентов»)	Хранение	Устойчивость
Ячейки системы «Neogen® ELISA набор (протеин моллюска)»	Один фольгированный пакет с планшетом из 96 съемных ячеек, покрытых антителами.	Готово к использованию.	2–8 °C в герметичном фольгированном пакете с влагопоглотителем.	Повторно герметизируйте фольгированный пакет, содержащий неиспользованные ячейки и влагопоглотитель. Для поддержания устойчивости храните при температуре 2–8 °C до истечения срока годности набора.

Neogen® Конъюгат HRP для моллюска (10X) 	Одна ампула с 1,5 мл 10-кратного концентрата антител (10X), конъюгированных с пероксидазой хрена (HRP).	Чтобы сделать 1-кратный рабочий раствор, разведите в соотношении 1/10 непосредственно перед использованием.	2–8 °C в темноте.	10-кратный конъюгат устойчив до истечения срока годности набора.
Neogen® Стандартный концентрат протеина моллюска 	Одна ампула с известной концентрацией протеина моллюска.	Стандартную процедуру подготовки см. в разделе «Процедура ELISA».	2–8 °C. Не замораживайте продукт.	Neogen Стандартный концентрат протеина моллюска устойчив до истечения срока годности набора.
Neogen® Разбавитель (5-кратный) 	Один флакон с 50 мл 5-кратного разбавителя.	Чтобы сделать 1-кратный рабочий раствор, разведите в соотношении 1/5 непосредственно перед использованием.	2–8 °C	5-кратный Neogen Раствор разбавителя устойчив до истечения срока годности набора.
Neogen® Раствор для промывания (20-кратный) 	Один флакон с 50 мл 20-кратного раствора для промывания.	Чтобы сделать 1-кратный рабочий раствор, разведите в соотношении 1/20.	2–8 °C для 1-кратного рабочего раствора и 20-кратного концентрата раствора для промывания.	20-кратный Neogen Раствор для промывания устойчив до истечения срока годности набора. 1-кратный раствор для промывания устойчив как минимум в течение одной недели после подготовки.
Neogen® Экстракционный буфер (4-кратный) E26 	Один флакон со 120 мл 4-кратного экстракционного буфера.	Чтобы сделать 1-кратный рабочий раствор, разведите в соотношении 1/4. Перед использованием нагрейте рабочий раствор до 50–60 °C.	2–8 °C для 1-кратного рабочего раствора и 4-кратного концентрата Neogen Экстракционного буфера.	1-кратный экстракционный буфер и 4-кратный Neogen Экстракционный буфер устойчивы до истечения срока годности набора.

Neogen® Раствор хромогенного субстрата 	Один флакон с 12 мл 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ).	Готово к использованию.	2–8 °C в темноте.	Берегите от света. Neogen Раствор хромогенного субстрата устойчив до истечения срока годности набора.
Neogen® Останавливающий раствор 	Один флакон с 12 мл серной кислоты в концентрации 0,3 М.	Готово к использованию.	2–8 °C	Neogen Останавливающий раствор устойчив до истечения срока годности набора.

Материалы, которые не поставляются в наборе:

- прецизионные пипетки и наконечники для пипеток на 10–100 мкл;
- пробирки;
- устройство для промывания или аспирации микротитрационных планшетов;
- дистиллированная или деионизированная вода;
- автоматическое считывающее устройство для микротитрационных планшетов;
- различная лабораторная посуда для подготовки реагентов и буферных растворов;
- таймер;
- вихревой смеситель;
- водяная баня-шейкер или шейкер-инкубатор;
- орбитальный шейкер.

Техника безопасности

Пользователь должен прочесть, понять и соблюдать все указания по технике безопасности в инструкциях к системе «Neogen ELISA набор (протеин моллюска)». Сохраните инструкции по технике безопасности для использования в дальнейшем.

⚠ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ Указывает на опасную ситуацию, которая, если ее не избежать, может привести к смерти или тяжелой травме и (или) к повреждению имущества.

УВЕДОМЛЕНИЕ Указывает на потенциально опасную ситуацию, которая, если ее не избежать, может привести к повреждению имущества.

⚠ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Для снижения рисков, связанных с воздействием химических веществ, придерживайтесь перечисленных ниже рекомендаций.

- Утилизируйте в соответствии с текущими местными, региональными, национальными, отраслевыми стандартами и нормами.
- Пользователь должен обучить персонал надлежащим методикам проведения анализа, например в соответствии с правилами «Надлежащая лабораторная практика»[1] или стандартом ISO/IEC 17025[2].
- Обязательно соблюдайте стандартные лабораторные меры обеспечения безопасности, в том числе используйте защитную одежду и средства защиты глаз при работе с реагентами.
- Избегайте контакта Neogen Останавливающего раствора с кожей. Дополнительную информацию о технике безопасности см. в паспорте безопасности материала.

Для снижения рисков, связанных с получением ложноотрицательных результатов и производством загрязненных продуктов, необходимо соблюдать следующие правила.

- Храните Neogen ELISA набор (протеин моллюска) согласно указаниям на упаковке и инструкциям к препарату.
- Используйте Neogen ELISA набор (протеин моллюска) для проб пищевых продуктов и проб из окружающей среды, которые прошли внутреннюю или стороннюю проверку.
- Соблюдайте протокол и выполняйте тестирование в строгом соответствии с инструкциями к препарату.
- Компания Neogen документально не подтверждала возможность использования системы «Neogen ELISA набор (протеин моллюска)» в других отраслях, кроме производства продуктов питания и

напитков. Например, компания Neogen не подтверждала документально возможность использования этого продукта для тестирования фармацевтических, косметических, клинических или ветеринарных проб.

Для снижения рисков, связанных с получением неточных результатов и производством загрязненных продуктов, необходимо соблюдать следующие правила.

- Всегда используйте Neogen ELISA набор (протеин моллюска) до истечения срока годности.
- Всегда подготавливайте рабочие растворы с помощью концентрированных реагентов системы «Neogen ELISA набор (протеин моллюска)» при температуре 20–25 °C.
- Не замораживайте Neogen Стандартный концентрат протеина моллюска.
- Если раствор хромогенного субстрата стал синим, не используйте его. Во избежание перекрестного загрязнения Neogen Раствора хромогенного субстрата соблюдайте правила «Надлежащая лабораторная практика»[1].
- Neogen® Наборы для анализа аллергенов протеинов не предназначены для обнаружения гидролизованных белков.
- Neogen Наборы для определения аллергенов разработаны для обнаружения белков из обработанных пищевых продуктов после их растворения в Neogen буфере для экстракции. Некоторые методы обработки пищевых продуктов могут ограничивать обнаружение этих белков-мишеней.
- Технология обработки некоторых пищевых продуктов может повлиять на определение пищевых белков с помощью Neogen Наборов для определения аллергенов. Пользователи должны убедиться, что метод соответствует их цели и требованиям.

УВЕДОМЛЕНИЕ

Для снижения рисков, связанных с неточными результатами, придерживайтесь перечисленных ниже рекомендаций.

- Устойчивость проб после экстракции не оценивалась. Процедуру ELISA следует выполнять сразу после экстракции пробы.
- Во избежание перекрестного загрязнения проб при работе с Neogen стандартными растворами протеина моллюска соблюдайте правила «Надлежащая лабораторная практика»[1].

Дополнительную информацию см. в паспорте безопасности продукта.

Получить информацию о документальном подтверждении характеристик продукта можно на веб-сайте www.neogen.com либо у местного представителя или дистрибьютора компании Neogen.

Ответственность пользователей

Пользователи несут полную ответственность за ознакомление с инструкциями и информацией об использовании препарата. Для получения более подробной информации посетите наш веб-сайт по адресу **www.neogen.com** либо свяжитесь с вашим местным представителем или дистрибьютором Neogen.

Как и в случае с любыми методами тестирования для анализа пищевых продуктов, тестовая матрица может повлиять на результаты тестирования. При выборе метода исследования важно понимать, что на результаты исследования могут влиять внешние факторы, например метод забора проб, протокол исследования, подготовка проб к исследованию, способы обработки проб во время исследования, а также используемое оборудование. Пищевая проба сама по себе может повлиять на результаты.

За выбор метода тестирования и исследуемого продукта отвечает пользователь: он должен на основании исследования достаточного количества образцов определить, отвечает ли выбранный метод тестирования необходимым ему критериям.

Кроме того, пользователь обязан установить, отвечают ли методы и результаты проводимых им анализов требованиям его клиентов и поставщиков.

Результаты, полученные с помощью продукта Neogen Food Safety (как и при использовании любого другого метода исследований), не гарантируют качество матриц или технологических процессов, подвергавшихся исследованиям.

Ограничение гарантий / ограниченная защита прав

ЕСЛИ ИНОЕ ЯВНО НЕ УКАЗАНО В РАЗДЕЛЕ ОБ ОГРАНИЧЕННОЙ ГАРАНТИИ НА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ УПАКОВКЕ ПРОДУКТА, NEOGEN НЕ ПРИЗНАЕТ ПРЯМЫЕ ИЛИ КОСВЕННЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА, ВКЛЮЧАЯ, ПОМИМО ПРОЧЕГО, ГАРАНТИЮ ТОВАРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ИЛИ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СООТВЕТСТВИИ С УКАЗАННОЙ ОБЛАСТЬЮ ПРИМЕНЕНИЯ. Если качество продукта отдела безопасности пищевой продукции компании

Neogen не является надлежащим, компания Neogen или уполномоченный этой компанией дистрибьютор обязуется по своему усмотрению заменить этот продукт или возместить стоимость покупки этого продукта. Это единственный способ разрешения спора. По любым дополнительным вопросам обращайтесь к представителю или официальному дилеру Neogen.

Ограничение ответственности компании Neogen

NEOGEN НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ ЗА УЩЕРБ ИЛИ ПОВРЕЖДЕНИЯ, ЯВЛЯЮЩИЕСЯ ПРЯМЫМИ, НЕПРЯМЫМИ, УМЫШЛЕННЫМИ, СЛУЧАЙНЫМИ ИЛИ КОСВЕННЫМИ, ВКЛЮЧАЯ, ПОМИМО ПРОЧЕГО, УТРАЧЕННУЮ ПРИБЫЛЬ. Ответственность компании Neogen ни при каких обстоятельствах и несмотря ни на какие требования не может превышать стоимость продукта.

Хранение и утилизация

Храните содержимое системы «Neogen ELISA набор (протеин моллюска)» при температуре 2–8 °C. Не замораживайте продукт. Храните разведенные рабочие растворы, как описано в таблице 1.

Не используйте компоненты системы «Neogen ELISA набор (протеин моллюска)» после истечения срока годности. Дата истечения срока годности и номер партии указаны на этикетке на наружной поверхности коробки.

Утилизируйте в соответствии с текущими местными, региональными, национальными, отраслевыми стандартами и нормами.

Инструкции по применению

Строго соблюдайте все инструкции. В противном случае результаты могут быть неточными.

Подготовка реагентов

Перед использованием доведите все реагенты до комнатной температуры (20–25 °C). Для разведения и хранения рабочих растворов пользуйтесь чистой лабораторной посудой.

а. Neogen Экстракционный буфер

Чтобы подготовить 1-кратный экстракционный буфер, добавьте одну часть Neogen Экстракционного буфера (4-кратного) и разведите его в трех частях деионизированной или дистиллированной воды. Перед использованием предварительно нагрейте экстракционный буфер (1-кратный) до температуры 50–60 °C в водяной бане или в шейкере-инкубаторе. Для каждой пробы требуется 4,5 мл 1-кратного экстракционного буфера.

б. Neogen Раствор разбавителя

Чтобы подготовить 1-кратный раствор разбавителя, добавьте одну часть Neogen разбавителя (5-кратного) к четырем частям деионизированной или дистиллированной воды. Для каждой пробы всего требуется 4,5 мл 1-кратного раствора разбавителя.

с. Neogen Раствор для промывания

Чтобы подготовить 1-кратный раствор для промывания, добавьте одну часть Neogen Раствора для промывания (20-кратного) к 19 частям деионизированной или дистиллированной воды. Для каждой ячейки Neogen ELISA требуется приблизительно 2,5 мл 1-кратного раствора для промывания.

Примечание. В случае хранения при температуре 2–8 °C в Neogen Растворе для промывания (20-кратном) могут образовываться кристаллы. Чтобы растворить кристаллы перед подготовкой раствора для промывания (1-кратного), подогрейте Neogen Раствор для промывания (20-кратный) до 30–35 °C в водяной бане или инкубаторе.

д. Neogen Конъюгат HRP для моллюска

Чтобы подготовить 1-кратный конъюгат HRP для моллюска, добавьте одну часть Neogen конъюгата HRP для моллюска (10-кратного) и разведите в 9 частях **1-кратного раствора разбавителя.** Подготовьте непосредственно перед использованием. Для каждой ячейки Neogen ELISA требуется 100 мкл 1-кратного конъюгата HRP для моллюска.

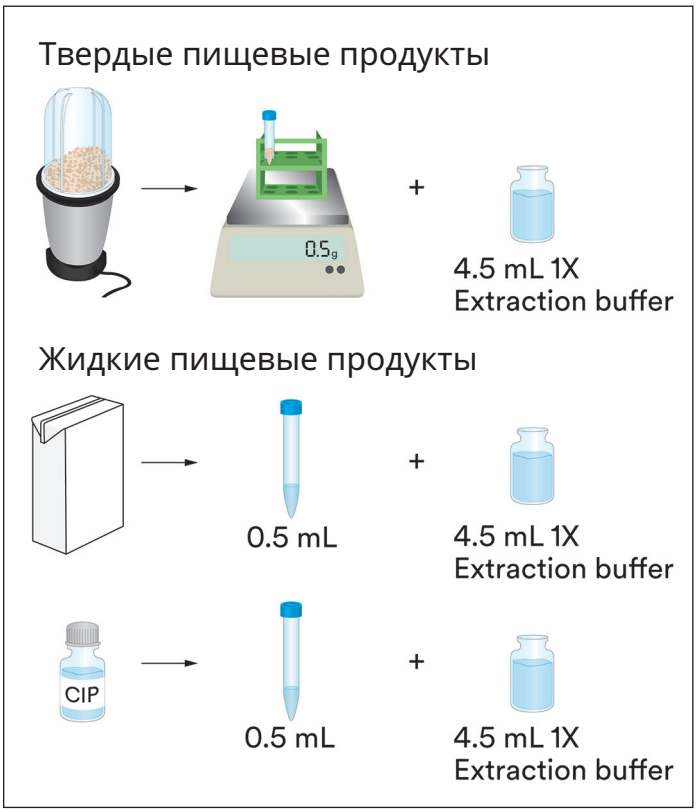
Подготовка образца

Примечание. Экстракцию всех проб следует проводить с 1-кратным экстракционным буфером, предварительно подогретым до 50–60 °C.

1.1. Подготовьте пробу для экстракции протеина в чистой либо одноразовой пробирке, как описано в таблице 2.

Таблица 2. Подготовка образца

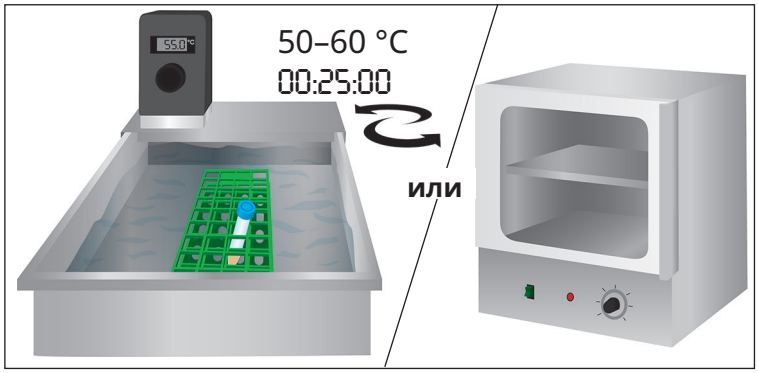
Образец пробы	**Размер пробы**	**Разведение (1/10)**
Твердые пищевые продукты	0,5 ± 0,02 г	Добавьте 4,5 ± 0,09 мл предварительно подогретого 1-кратного экстракционного буфера
Жидкие пищевые продукты	0,5 ± 0,01 мл	Добавьте 4,5 ± 0,09 мл предварительно подогретого 1-кратного экстракционного буфера
Финальная вода CIP-мойки	0,5 ± 0,01 мл	Добавьте 4,5 ± 0,09 мл предварительно подогретого 1-кратного экстракционного буфера

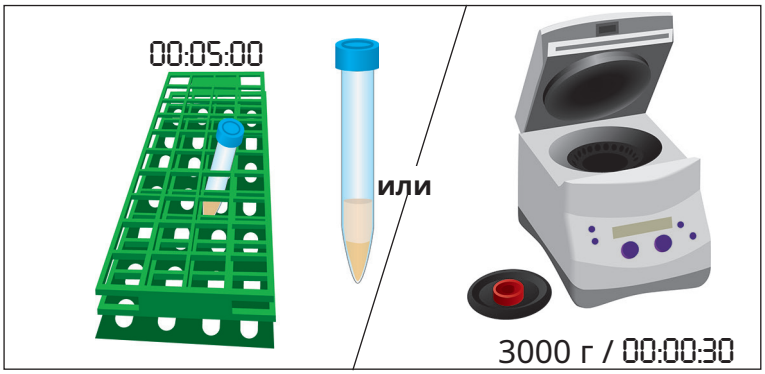


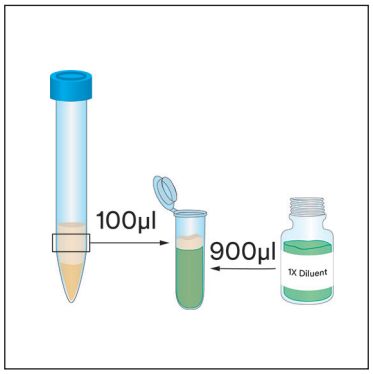
1.2. Инкубируйте разведенные пробы в водяной бане-шейкере или в шейкере-инкубаторе при температуре 50–60 °C в течение 25 ± 1 мин. Также можно оставить пробы в водяной бане или инкубаторе при температуре 50–60 °C и каждые 5 минут вручную встряхивать в течение 1 минуты.

1.3. После инкубации центрифугируйте пробы при 5000–7000 об/мин (3000 x *g*) в течение 20–30 секунд для осаждения твердых частиц либо на 5 минут оставьте их в штативе для пробирок для образования осадка.

1.4. Заберите 100 мкл из среднего (водного) слоя и добавьте к 900 мкл раствора разбавителя (1-кратного). Хорошо перемешайте путем взбалтывания или встряхивания (это соответствует степени разведения исходной пробы 1/100).







Процедура ELISA

2.1. Извлеките по одной ячейке Neogen ELISA для каждой пробы и (или) стандартного раствора и поместите их в держатель для ячеек. Верните неиспользованные ячейки Neogen ELISA в фольгированный пакет, обратно герметизируйте и поместите обратно на хранение при температуре 2–8 °C.

2.2. С помощью Neogen Стандартного концентрата протеина моллюска подготовьте набор из четырех стандартных растворов, разбавленных в растворе разбавителя (1-кратном).

Номер стандартного раствора	Концентрация стандартного раствора (нг/мл)	Объем стандартного раствора, добавляемого к 1-кратному разбавителю	Объем 1-кратного раствора разбавителя
4	270	10 мкл Neogen Стандартного концентрата протеина моллюска	990 мкл
3	90	200 мкл стандартного раствора 4	400 мкл
2	30	200 мкл стандартного раствора 3	400 мкл
1	10	200 мкл стандартного раствора 2	400 мкл
0	0	0	400 мкл

2.3. Внесите пипеткой по 100 мкл каждого стандартного раствора в ячейки Neogen ELISA.

- Стандартный раствор 0 (1-кратный раствор разбавителя)
- Стандартный раствор 1 (10 нг/мл) ppb
- Стандартный раствор 2 (30 нг/мл) ppb
- Стандартный раствор 3 (90 нг/мл) ppb
- Стандартный раствор 4 (270 нг/мл) ppb

2.4. Внесите пипеткой 100 мкл экстрагированной пробы, подготовленной на этапе 1.4, в ячейку Neogen ELISA.

2.5. Инкубируйте ячейки Neogen ELISA в орбитальном шейкере со скоростью 400 об/мин при комнатной температуре (20–25 °C) в течение 30 ± 2 мин. Во избежание испарения на этом этапе ячейки должны оставаться накрытыми и в ровном положении.

2.6. После инкубации удалите содержимое ячеек Neogen ELISA с помощью аспиратора.

2.7. Полностью заполните каждую ячейку Neogen ELISA 1-кратным раствором для промывания и удалите аспиратором. Если промывание выполняется вручную, переверните планшет, вылейте (вытряхните) содержимое в контейнер для отходов и резко постучите ячейками о впитывающую бумагу, чтобы удалить остатки раствора для промывания. Трижды повторите этот этап, чтобы выполнить промывание четыре раза.

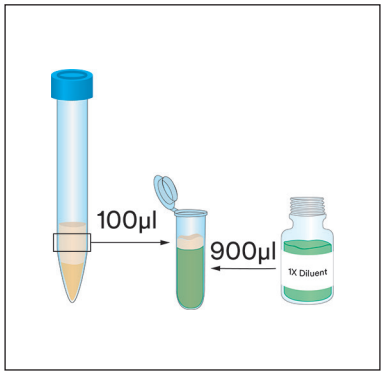
2.8. Внесите пипеткой 100 мкл 1-кратного конъюгата HRP для моллюска в каждую ячейку Neogen ELISA. Инкубируйте на орбитальном шейкере со скоростью 400 об/мин при комнатной температуре в течение 10 ± 2 мин. На этом этапе планшет должен оставаться накрытым, в темноте и в ровном положении.

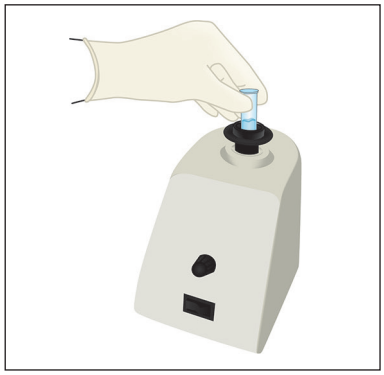
2.9 Повторите этапы 2.6 и 2.7, чтобы выполнить промывание раствором для промывания (1-кратным) четыре раза.

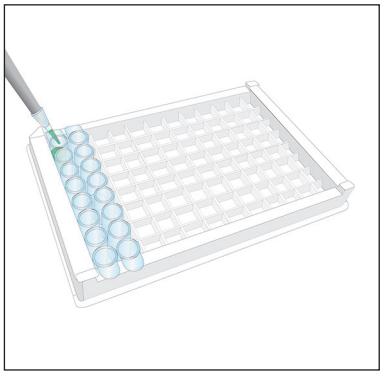
2.10 С помощью пипетки поместите 100 мкл Neogen Раствора хромогенного субстрата (ТМБ) в каждую ячейку Neogen ELISA.

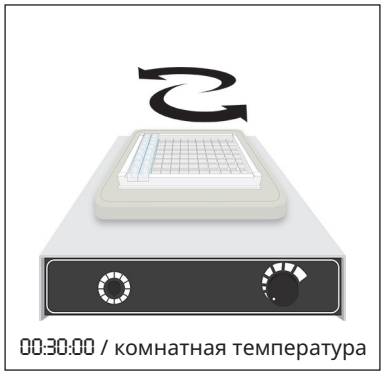
2.11 Инкубируйте на орбитальном шейкере со скоростью 400 об/мин при комнатной температуре в течение 10 минут. На этом этапе планшет должен оставаться накрытым, в темноте и в ровном положении.

2.12 После инкубации добавьте по 100 мкл Neogen Останавливающего раствора в каждую ячейку Neogen ELISA и определите абсорбцию (при длине волны 450 нм) в течение 30 минут.

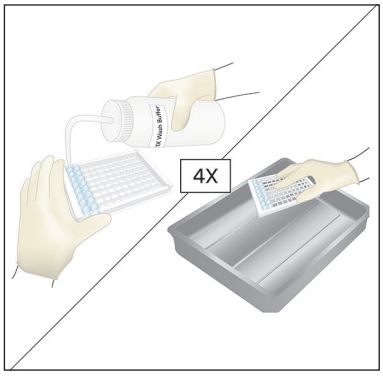






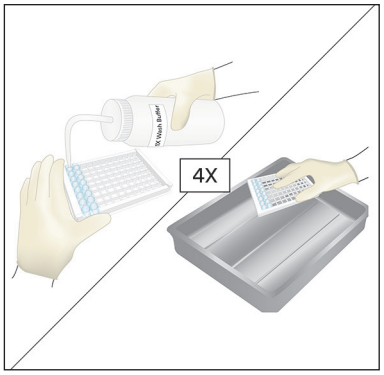




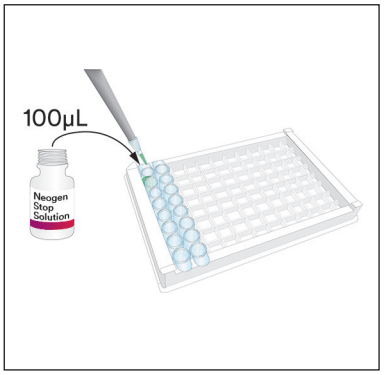


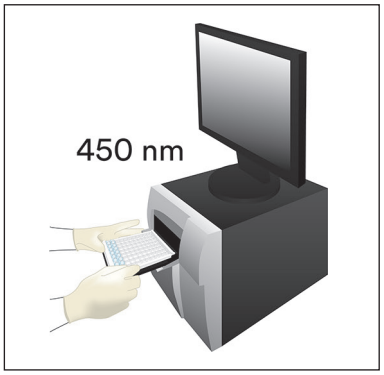












Анализ результатов

3.1. Вычтите среднее фоновое значение для каждой пробы (средний показатель абсорбции пробы минус средний показатель абсорбции нулевого стандартного раствора).

3.2. С помощью компьютерного программного обеспечения для расчета четырехпараметрической логистической регрессии постройте стандартную кривую: для этого нанесите значения концентрации в нг/мл (ppb) на ось X и соответствующие каждому стандартному раствору значения абсорбции на ось Y. Можно также использовать полином второго порядка (квадратичный) или другие кривые приближения, однако они будут менее точным приближением данных.

3.3. Рассчитайте концентрации проб по стандартной кривой. Единица измерения результатов — нг/мл (ppb). Затем умножьте на коэффициент разбавления пробы, чтобы получить концентрацию исходной пробы. Например, если общая степень разведения пробы составляет 1/100 и концентрация пробы на стандартной кривой составляет 200 нг/мл (ppb), окончательная концентрация пробы составляет 200 нг/мл x 100 = 20 000 нг/мл (ppb), что равно 20 мкг/мл (ppm).

Минимальные рабочие характеристики

а. Аналитический предел обнаружения (LOD) составляет 7,2 нг/мл (ppb).

Пределом обнаружения считается низшая концентрация аллергена в исследуемой пробе, которую можно отличить от истинной холостой пробы с указанным уровнем вероятности[3]. Определяется путем сложения трех среднеквадратических отклонений и среднего значения оптической плотности сорока восьми реплик стандартного нулевого раствора и подсчета соответствующей концентрации.

б. Предел количественного определения (LOQ) составляет 1 ppm.

Пределом количественного определения считается низший уровень аллергена в исследуемой пробе, который можно в разумной мере количественно оценить с указанным уровнем точности[3].

Точность

Точность в пределах одного анализа	Средн. %CV = < 10	N = 12
Точность в пределах разных анализов	Средн. %CV = < 10	N = 12

Ссылки

1. Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США. Свод федеральных постановлений, статья 21, часть 58. Надлежащая лабораторная практика для доклинических лабораторных исследований.
2. ISO/IEC 17025. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий.
3. Эбботт М., Хэйуорд С., Росс В., Годфруа С. Б., Ульберт Ф., Ван Хенгель А. Дж., Робертс Дж., Акияма Х., Поппинг Б., Еун Дж. М., Уэлинг П., Тейлор С., Помс Р. Э. и Делао П. (2010 г.). Приложение M. Процедуры подтверждения методов количественного анализа пищевых аллергенов ELISA: общие правила и рекомендуемые методики. J. AOAC Int. 93, 442–450.

Пояснение символов

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

NEOGEN

Ürün Talimatları

Yumuşakçalar Proteini ELISA Kiti

Yumuşakçalar proteinlerinin nicel analizi için Enzime Bağlı İmmunosorbent Test (ELISA).

Ürün Tanımı ve Kullanım Amacı

Neogen® Yumuşakçalar Proteini ELISA Kiti, yerinde temizleme (CIP) son durulama suyu, çevresel svab örnekleri, gıda bileşenleri ve işlenmiş gıda ürünlerinde yumuşakçalar proteinlerinin algılanması için geliştirilmiştir.

Neogen Yumuşakçalar Proteini ELISA Kitinde sandviç ELISA kullanılır. Örnekte bulunan yumuşakçalar proteinleri, polistiren mikrotitre yuvalarının yüzeyine tutunan yumuşakçalar karşıtı antikorla reaksiyona girer. Bağsız proteinler yıkanarak giderildikten sonra yabanturbu peroksidaz (HRP) ile bağlı yumuşakçalar karşıtı antikorlar ilave edilir. Bu enzimle işaretlenmiş antikorlar, önceden bağlı olan yumuşakçalar proteiniyle bileşikler oluşturur. İkinci yıkama adımının ardından, kromojenik bir substrat olan 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin (TMB) ilave edilerek immunoabsorbente bağlı enzim tespit edilir. Bu enzim reaksiyonundan ortaya çıkan renk, test edilen örnekteki yumuşakçalar proteininin yoğunluğuna doğrudan bağlı olarak değiştiğinden, 450 nm'deki emilim, test örneğindeki yumuşakçalar proteini yoğunluğunun ölçümü için kullanılır. Test örneğinde mevcut yumuşakçalar proteininin miktarı, bilinen yoğunluk standartlarından hareketle standart eğriden tahmin edilebilir ve örneğin seyreltilmesi göz önünde bulundurularak değerlendirilebilir.

Neogen Yumuşakçalar Proteini ELISA Kiti laboratuvar teknikleri konusunda eğitim almış uzmanlar tarafından bir laboratuvar ortamında kullanıma yöneliktir. Neogen, bu ürünü yiyecek veya içecek endüstrileri dışında kullanım için tescil ettirmemiştir. Örneğin Neogen bu ürünü farmasötik ürünler, kozmetik malzemeler, klinik veya veterinerlik amaçlı numunelerin testlerinde kullanım için tescil ettirmemiştir. Neogen Yumuşakçalar Proteini ELISA Kiti, tüm potansiyel gıda ürünleri, gıda işlemleri ve test protokolleriyle değerlendirilmemiştir.

Neogen Yumuşakçalar Proteini ELISA Kiti, Tablo 1'de açıklanan 96 yuvaya sahiptir.

Tablo 1. Kit bileşenleri

Malzeme	Tanım	Hazırlama (ayrıntılar için bkz. Reaktifin Hazırlanması Bölümü)	Saklama	Stabilite
Neogen® Yumuşakçalar Proteini ELISA Yuvaları	96 çıkarılabilir antikor kaplı yuva içeren bir adet folyo poşet.	Kullanıma hazır.	Nem çekicili mühürlü folyo poşette 2-8°C.	Kullanılmamış yuvalar ve nem çekici içeren folyo poşeti tekrar mühürleyin. Kitin son kullanma tarihine kadar stabiliteyi korumak için 2-8°C sıcaklıkta saklayın.
Neogen® Yumuşakçalar HRP Konjugatı (10X)	1,5 mL 10X Yabanturbu Peroksidazla (HRP) Bağlı antikor içeren bir adet şişe (10X).	1X çalışma çözeltisi hazırlamak için kullanımdan hemen önce 1/10 oranında seyreltin.	Karanlıkta 2-8°C.	10X konjugat, kit üzerindeki son kullanım tarihine kadar stabildir.
Neogen® Yumuşakçalar Proteini Standart Konsantresi	Bilinen yoğunlukta yumuşakçalar proteini içeren bir adet şişe.	Standart hazırlama için ELISA Prosedürü Bölümünü inceleyin.	2-8°C. Dondurmayın.	Neogen Yumuşakçalar Proteini Standart Konsantresi, kitin son kullanım tarihine kadar stabildir.

Neogen® Seyreltici (5X)	50 mL 5X Seyreltici içeren bir adet şişe.	1X çalışma çözeltisi hazırlamak için kullanımdan hemen önce 1/5 oranında seyreltin.	2-8°C	5X Neogen Seyreltici Çözelti, kit üzerindeki son kullanım tarihine kadar stabildir.
Neogen® Yıkama Çözeltisi (20X)	50 mL 20X yıkama çözeltisi içeren bir adet şişe.	1X çalışma çözeltisi elde etmek için 1/20 oranında seyreltin.	Hem 1X çalışma çözeltisi hem de 20X Yıkama Çözeltisi konsantrasyonu için 2-8°C.	20X Neogen Yıkama Çözeltisi, kit üzerindeki son kullanım tarihine kadar stabildir. 1X Yıkama Çözeltisi, hazırlandıktan sonra en az bir hafta stabildir.
Neogen® Özütleme Tamponu E26 (4X)	120 mL 4X özütleme tamponu içeren bir adet şişe.	1X çalışma çözeltisi elde etmek için 1/4 oranında seyreltin. Çalışma çözeltisi, kullanılmadan önce 50-60°C sıcaklığa kadar ısıtılmalıdır.	Hem 1X çalışma çözeltisi hem de 4X Neogen Özütleme Tamponu konsantresi için 2-8°C.	1X Özütleme Tamponu ve 4X Neogen Özütleme Tamponu, kitin son kullanım tarihine kadar stabildir.
Neogen® Kromojenik Substrat Çözeltisi	12 mL 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin (TMB) içeren bir adet şişe.	Kullanıma hazır.	Karanlıkta 2-8°C.	Işıktan koruyun. Neogen Kromojenik Substrat Çözeltisi, kit üzerindeki son kullanım tarihine kadar stabildir.
Neogen® Stop Çözeltisi	12 mL 0,3 M sülfürik asit içeren bir adet şişe.	Kullanıma hazır.	2-8°C	Neogen Stop Çözeltisi, kit üzerindeki son kullanım tarihine kadar stabildir.

Kitte verilmeyen malzemeler:

- 10 ila 100 µL arası toplamak için hassas pipetler ve pipet uçları
- Test tüpleri
- Mikrotitre plakası yıkayıcı/emici
- Damıtılmış veya deiyonize su
- Mikrotitre plakası okuyucu
- Reaktif ve tampon çözelti hazırlamak için çeşitli laboratuvar malzemeleri
- Zamanlayıcı
- Vorteks
- Çalkalamalı su banyosu veya çalkalamalı inkübatör
- Yörüngeli çalkalayıcı

Güvenlik

Kullanıcı, Neogen Yumuşakçalar Proteini ELISA Kiti talimatlarında yer alan tüm güvenlik bilgilerini okumalı, anlamalı ve uygulamalıdır. Güvenlik talimatlarını ileride başvurmak üzere saklayın.

⚠ **UYARI:** Önlenmemesi halinde ölüm ya da ciddi yaralanma ve/veya mal zararı ile sonuçlanabilecek tehlikeli bir durumu gösterir.

BİLDİRİM: Kaçınılmaması halinde maddi zarar ile sonuçlanabilen olası tehlikeli bir durumu gösterir.

⚠ UYARI

Kimyasal maddelere maruz kalınmasıyla ilişkili riskleri azaltmak için:

- Geçerli yerel/bölgesel/ulusal standartlara ve yönetmeliklere/sektör standartlarına ve yönetmeliklere göre imha edin.

- Kullanıcının güncel ve doğru test teknikleri, örneğin İyi Laboratuvar Uygulamaları[1] veya ISO/IEC 17025[2] konusunda personeline eğitim vermesi gerekir.
- Reaktiflerle çalışırken, uygun koruyucu kıyafet ve gözlük kullanımı dahil olmak üzere daima standart laboratuvar güvenlik uygulamalarını izleyin.
- Neogen Stop Çözeltisinin deriye temas etmesinden kaçının. İlave güvenlik bilgileri için Güvenlik Veri Sayfasını inceleyin.

Kontamine ürünün açığa çıkmasına yol açan yanlış negatif sonuçlar ile ilişkili riskleri azaltmak için:

- Neogen Yumuşakçalar Proteini ELISA Kitini ambalaj üzerinde ve ürün talimatlarında belirtildiği şekilde saklayın.
- Neogen Yumuşakçalar Proteini ELISA Kitini dahili olarak veya bir üçüncü tarafça valide edilmiş gıda ve çevre örnekleri ile kullanın.
- Tam olarak ürün talimatlarında belirtildiği şekilde protokolü uygulayın ve testleri gerçekleştirin.
- Neogen, Neogen Yumuşakçalar Proteini ELISA Kitini yiyecek veya içecek endüstrileri dışında kullanım için belgelememiştir. Örneğin Neogen bu ürünü farmasötik ürünler, kozmetik malzemeler, klinik veya veterinerlik amaçlı numunelerin testlerinde kullanım için tescil ettirmemiştir.

Kontamine ürünün açığa çıkmasına yol açan hatalı sonuçlar ile ilişkili riskleri azaltmak için:

- Neogen Yumuşakçalar Proteini ELISA Kitini mutlaka son kullanım tarihinden önce kullanın.
- Neogen Yumuşakçalar Proteini ELISA Kitiyle konsantre reaktiflerini kullanarak çalışma çözeltilerini her zaman 20-25°C sıcaklıklarda hazırlayın.
- Neogen Yumuşakçalar Proteini Standart Konsantresini dondurmayın.
- Rengi maviye dönmüş Kromojenik Substrat Çözeltisini kullanmayın. Neogen Kromojenik Substrat Çözeltisinin çapraz kontaminasyonundan kaçınmak için İyi Laboratuvar Uygulamalarına[1] uyun.
- Neogen® Allerjen Proteini Test Kitleri hidrolize proteinlerin tespiti için uygun değildir.
- Neogen Alerjen Protein Test Kitleri, işlenmiş gıdalardaki proteinleri Neogen Ekstraksiyon Tampon Solusyonu'nda solubilize edildikten sonra tespit etmek üzere tasarlanmıştır. Bazı gıda işleme yöntemleri bu hedef proteinlerin tespitini sınırlayabilir.
- Bazı gıda işleme yöntemleri gıda proteinlerinin Neogen Alerjen Protein Test Kitleri ile tespitini etkileyebilir. Kullanıcılar, yöntemin kullanıcı gereksinimlerini karşılamak için amaca uygun olduğunu doğrulamalıdır.

BİLDİRİM

Hatalı sonuçlara ilişkin riskleri azaltmak için:

- Özütleme sonrasında örneklerin stabilitesi değerlendirilmemiştir. ELISA prosedürü, örnek özütlendikten hemen sonra yapılmalıdır.
- Örneklerin çapraz kontaminasyonunu önlemek için Neogen Yumuşakçalar Proteini Standartlarını İyi Laboratuvar Uygulamalarına[1] uygun olarak uygulayın.

Detaylı bilgi için Güvenlik Veri Formuna başvurun.

Ürün performansıyla ilgili dokümantasyon için www.neogen.com adresindeki web sitemizi ziyaret edin veya yerel Neogen temsilciniz ya da dağıtıcınızla iletişim kurun.

Kullanıcının Sorumluluğu

Kullanıcılar ürün talimatları ve bilgileri hakkında bilgi edinmekle yükümlüdür. Daha fazla bilgi için **www.neogen.com** adresini ziyaret edin ya da yerel Neogen temsilcinizle veya dağıtımcınızla iletişim kurun.

Gıda analizi için kullanılan tüm test yöntemlerinde olduğu gibi test matrisi sonuçları etkileyebilir. Bir test yöntemi seçilirken numune alma yöntemleri, test protokolleri, numunenin hazırlanması, işlem yapılması ve laboratuvar tekniği gibi dış faktörlerin sonuçları etkileyebileceğinin bilinmesi gerekir. Gıda numunesinin kendisi sonuçları etkileyebilir.

Seçilen test yönteminin kullanıcının kriterlerini karşıladığı konusunda kullanıcıyı tatmin edecek yeterli sayıda numuneyi değerlendirmek üzere herhangi bir test yönteminin seçilmesi kullanıcının sorumluluğundadır.

Tüm test yöntemlerinin ve sonuçlarının müşteri ve tedarikçi gereksinimlerini karşılamasını sağlamak yine kullanıcının sorumluluğundadır.

Tüm test yöntemlerinde olduğu gibi, herhangi bir Neogen Gıda Güvenliği ürününün kullanılmasından elde edilen sonuçlar test edilen matrislerin veya süreçlerin kalitesi konusunda bir garanti oluşturmaz.

Garanti Sınırlaması/Yasal Yollara İlişkin Sınırlama

NEOGEN, HER BİR ÜRÜN AMBALAJININ ÜZERİNDEKİ SINIRLI GARANTİ KISMINDA AÇIKÇA BELİRTİLENLER HARİCİNDE, PAZARLANABİLİRLİK VEYA BELİRLİ BİR KULLANIMA UYGUNLUK GARANTİLERİ DAHİL ANCAK BUNLARLA SINIRLI OLMAMAK ÜZERE TÜM AÇIK VEYA ZIMNİ GARANTİLERİ KABUL ETMEMEKTEDİR. Herhangi bir Neogen Gıda Güvenlik Ürünü'nün kusurlu olması durumunda, Neogen veya yetkili dağıtıcısı, tercihine göre ürünü değiştirecek veya ürün satış tutarını iade edecektir. Tarafınıza münhasır çözümler bunlardır. Diğer her türlü sorunuz için lütfen Neogen temsilciniz veya yetkili Neogen distribütörünüz ile iletişim kurun.

Neogen Sorumluluğunun Sınırlandırılması

NEOGEN DOĞRUDAN, DOLAYLI, ÖZEL, ARIZİ VEYA NETİCE KABİLİNDEN DOĞMUŞ, KAYBEDİLMİŞ KAZANÇLAR DAHİL ANCAK BUNUNLA SINIRLI OLMAMAK ÜZERE HERHANGİ BİR KAYIP VEYA ZARARDAN SORUMLU OLMAYACAKTIR. Hiçbir durumda Neogen'in herhangi bir hukuk kuramı altındaki sorumluluğu, kusurlu olduğu iddia edilen ürünün satış fiyatını aşamaz.

Saklama ve İmha

Neogen Yumuşakçalar Proteini ELISA Kitinin içindekileri 2-8°C sıcaklıkta saklayın. Dondurmayın. Seyreltilmiş çalışma çözeltilerini Tablo 1'de açıklandığı biçimde saklayın.

Neogen Yumuşakçalar Proteini ELISA Kiti bileşenleri, son kullanım tarihinden sonra saklanmamalıdır. Son kullanma tarihi ve lot numarası kutunun dış yüzündeki etikette belirtilmiştir.

Geçerli yerel/bölgesel/ulusal standartlara ve yönetmeliklere/sektör standartlarına ve yönetmeliklere göre imha edin.

Kullanım Talimatları

Tüm talimatları dikkate izleyin. Bu uyarının dikkate alınmaması hatalı sonuçlara neden olabilir.

Reaktifin Hazırlanması

Tüm reaktifleri, kullanmadan önce oda sıcaklığına (20-25°C) getirin. Çalışma çözeltilerini seyreltmek ve saklamak için temiz laboratuvar malzemeleri kullanın.

a. Neogen Özütleme Tamponu

1X Özütleme Tamponu hazırlamak için Neogen Özütleme Tamponundan (4X) bir birim ilave edin ve üç birim deiyonize veya damıtılmış suda seyreltin. Özütleme Tamponunu (1X) kullanmadan önce su banyosu veya çalkalamalı inkübatörde 50-60°C'ye önceden ısıtın. Her bir örnek için 4,5 mL 1X Özütleme Tamponu gereklidir.

b. Neogen Seyreltici Çözelti

1X Seyreltici çözeltiyi hazırlamak için bir birim Neogen Seyreltıciyi (5X) dört birim deiyonize veya damıtılmış suya ilave edin. Her örnek, toplam 4,5 mL 1X Seyreltici çözelti içerir.

c. Neogen Yıkama Çözeltisi

1X Yıkama Çözeltisi hazırlamak için bir birim Neogen Yıkama Çözeltisini (20X) 19 birim deiyonize veya damıtılmış suya ilave edin. Her bir Neogen ELISA Yuvası için yaklaşık 2,5 mL 1X Yıkama Çözeltisi gerekir.

Not: 2-8°C sıcaklıkta saklandığında, Neogen Yıkama Çözeltisinde (20X) kristaller oluşabilir. Kristalleri çözmek için Yıkama Çözeltisini (1X) hazırlamadan önce Neogen Yıkama Çözeltisini (20X) yıkama banyosu veya inkübatörde 30-35°C sıcaklığa ısıtın.

d. Neogen Yumuşakçalar HRP Konjugatı

1X Yumuşakçalar HRP Konjugatı hazırlamak için bir birim Neogen Yumuşakçalar HRP Konjugatı (10X) ilave edin ve 9 birim **1X Seyreltici çözelti** içinde seyreltin. Kullanımdan hemen önce hazırlayın. Her bir Neogen ELISA Yuvası için 100 µL 1X Yumuşakçalar HRP Konjugatı gerekir.

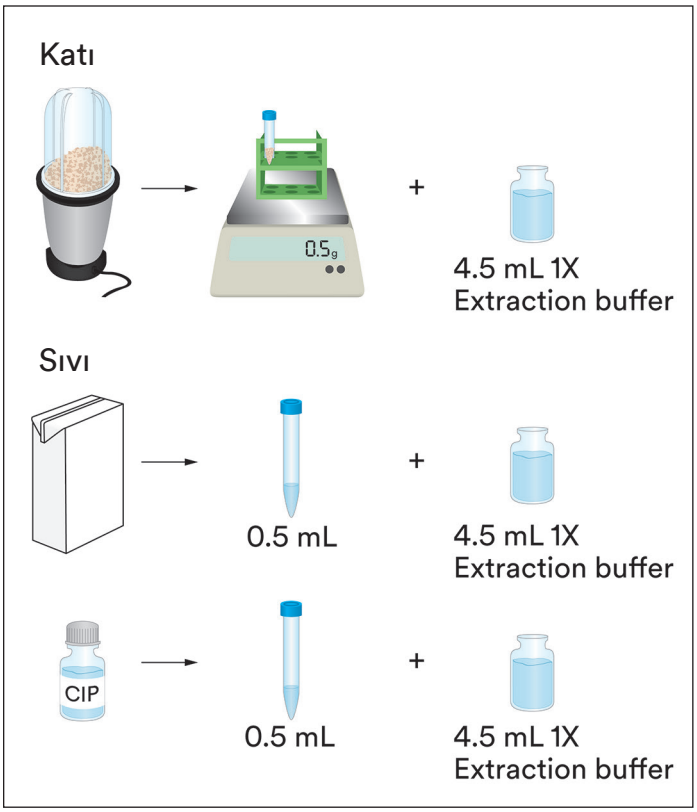
Örnek Hazırlama

Not: Tüm örnekler, 50-60°C sıcaklığa önceden ısıtılarak 1X Özütleme Tamponuyla özütlenmelidir.

1.1 Tablo 2'de açıklandığı gibi temiz bir test tüpü veya tek kullanımlık bir tüpte protein özütleme için örnek hazırlayın.

Tablo 2. Örnek hazırlama

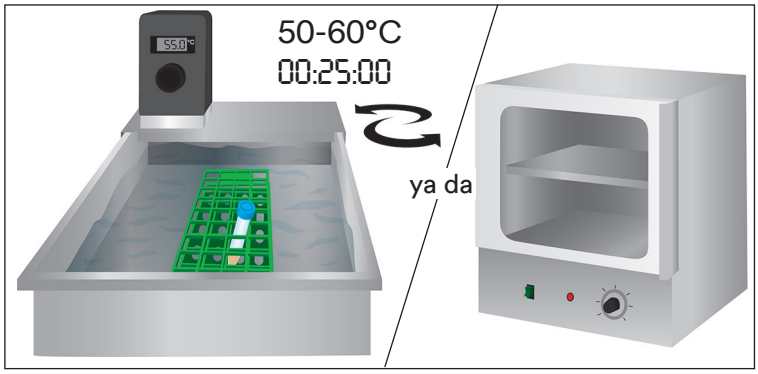
Örnek matrisi	Örnek boyutu	Seyreltme (1/10)
Katı gıdalar	0,5 ± 0,02 g	4,5 ± 0,09 mL önceden ısıtılmış 1X Özütleme Tamponu ilave edin
Sıvı gıdalar	0,5 ± 0,01 mL	4,5 ± 0,09 mL önceden ısıtılmış 1X Özütleme Tamponu ilave edin
Yerinde Temizleme (CIP) Son Durulama Suyu	0,5 ± 0,01 mL	4,5 ± 0,09 mL önceden ısıtılmış 1X Özütleme Tamponu ilave edin

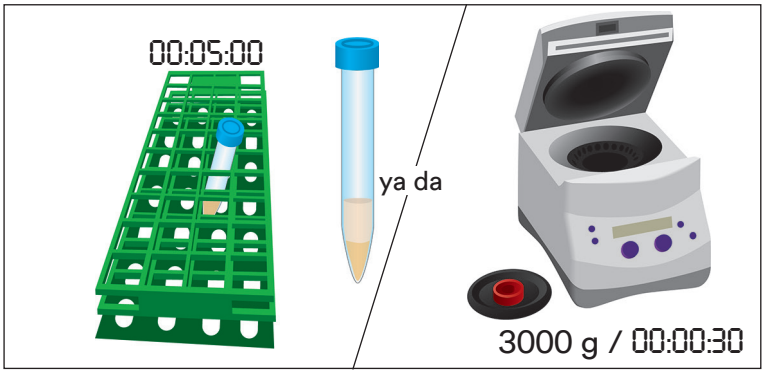


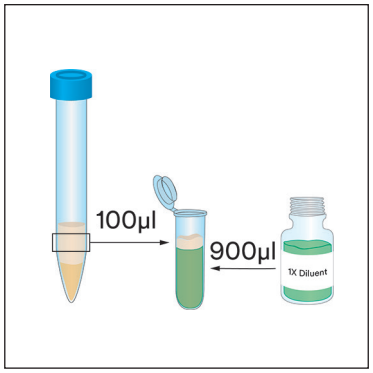
1.2 Seyreltilmiş örnekleri çalkalamalı su banyosu veya çalkalamalı inkübatörde 25 ± 1 dakika boyunca 50-60° sıcaklıkta inkübe edin. Diğer bir seçenek, örnekleri su banyosu veya inkübatörde 50-60°C'de bırakmak ve her 5 dakikada 1 dakika manuel olarak çalkalamaktır.

1.3 İnkübasyonun ardından, parçacıkların pelletlenmesini sağlamak için örnekleri 20 ila 30 saniye boyunca 5000-7000 rpm (3000 x *g*) devirde santrifüjleyin veya test tüpü rafında 5 dakika boyunca çökelmeye bırakın.

1.4 Ara (sulu) katmandan 100 µL alın ve 900 µL Seyreltici Çözeltiye (1X) ilave edin. İyice karışması için vorteksleyin veya çalkalayın. (Bu, örneğin ilk halinin 1/100 oranında seyreltilmesine karşılık gelir.)







ELISA Prosedürü

2.1 Örnek ve/veya standart başına bir Neogen ELISA Yuvasını çıkarın ve yuvaları yuva tutucuya yerleştirin. Kullanılmamış Neogen ELISA Yuvalarını tekrar folyo poşete yerleştirin, yeniden mühürleyin ve tekrar 2-8°C sıcaklıkta saklayın.

2.2 Neogen Yumuşakçalar Proteini Standart Konsantresini kullanarak Seyreltici Çözeltide (1X) seyreltilmiş dört standart hazırlayın.

Standart Numarası	Standart Konsantrasyonu (ng/mL)	1X Seyreltiçiye ilave edilmiş standart hacmi	1X Seyreltici çözelti hacmi
4	270	10 µL Neogen Yumuşakçalar Proteini Standart Konsantresi	990 µL
3	90	200 µL standart no. 4	400 µL
2	30	200 µL standart no. 3	400 µL
1	10	200 µL standart no. 2	400 µL
0	0	0	400 µL

2.3 Her bir standarttan 100 µL'yi pipetle Neogen ELISA Yuvalarına aktarın.

- Standart 0 (1X Seyreltici Çözelti)
- Standart 1 (10 ng/mL) ppb
- Standart 2 (30 ng/mL) ppb
- Standart 3 (90 ng/mL) ppb
- Standart 4 (270 ng/mL) ppb

2.4 1.4'te hazırlanan 100 µL özütlenmiş örneği pipetle Neogen ELISA Yuvasına aktarın.

2.5 Neogen ELISA Yuvalarını 400 rpm devire ayarlanmış yörüngeli çalkalayıcıda ortam sıcaklığında (20-25°C) 30 ± 2 dakika inkübe edin. Buharlaşmayı önlemek için bu adımda yuvaları kapalı ve düz tutun.

2.6 İnkübasyonun ardından, Neogen ELISA Yuvalarının içeriğini çekin.

2.7 Her bir Neogen ELISA Yuvasını 1X Yıkama Çözeltisiyle tamamen doldurun ve çekin. Yıkama işleminin manuel olarak yapılması durumunda, plakayı ters çevirin ve içindekileri çöp kutusuna boşaltın yıkama çözeltisi kalıntılarını gidermek için yuvaları emici bir kağıda sertçe vurun. Toplam dört yıkama için bu adımı üç kez tekrarlayın.

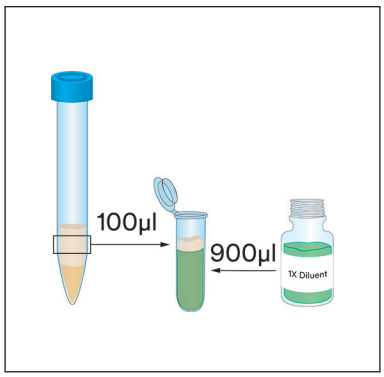
2.8 Her bir Neogen ELISA Yuvasına pipetle 100 µL 1X Yumuşakçalar HRP Konjugatı boşaltın. 400 rpm devire ayarlanmış yörüngeli çalkalayıcıda ortam sıcaklığında 10 ± 2 dakika inkübe edin. Bu adımda plakayı karanlık ve düz tutun.

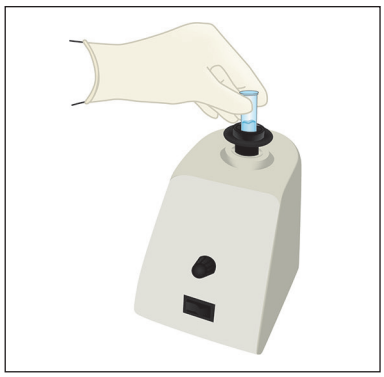
2.9 Yıkama Çözeltisiyle (1X) toplam dört yıkamayı tamamlamak için 2.6 ve 2.7 adımlarını tekrarlayın.

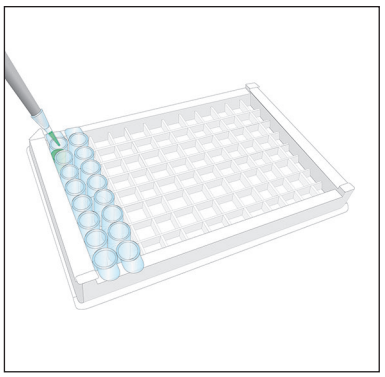
2.10 100 µL Neogen Kromojenik Substrat Çözeltisini (TMB) Neogen ELISA Yuvalarının her birine pipetle doldurun.

2.11 400 rpm devire ayarlanmış yörüngeli çalkalayıcıda ortam sıcaklığında 10 dakika inkübe edin. Bu adımda plakayı karanlık ve düz tutun.

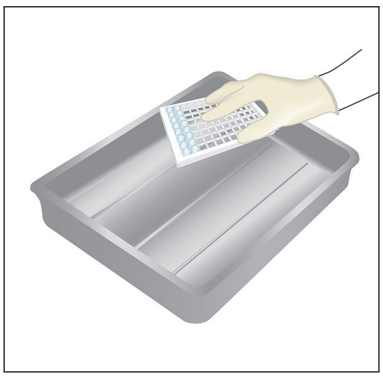
2.12 İnkübasyonun ardından, Neogen ELISA Yuvalarının her birine 100 µL Neogen Stop Çözeltisi ilave edip (450 nm'de) 30 dakika içinde emilimi tespit edin.

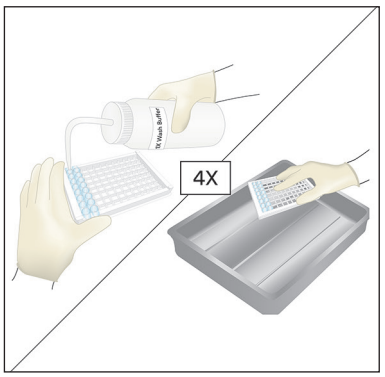


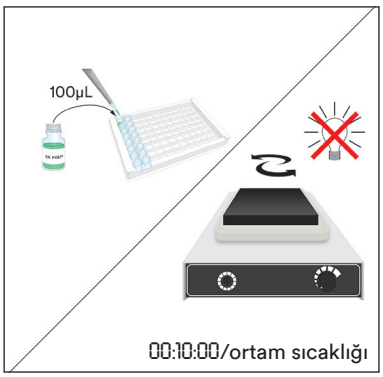


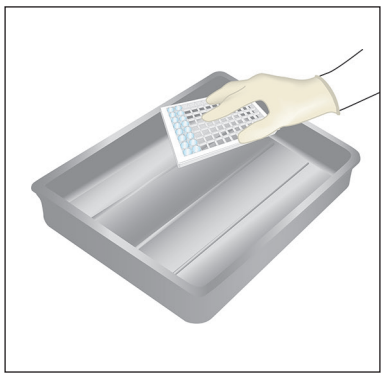


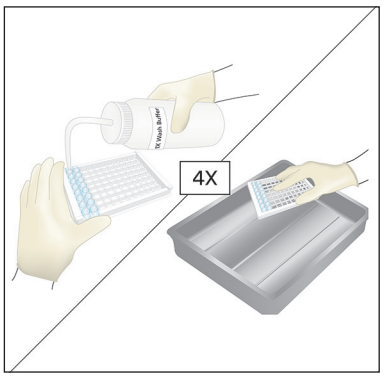


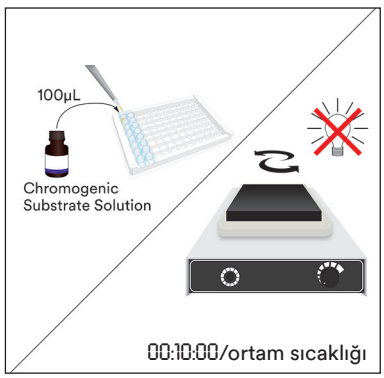


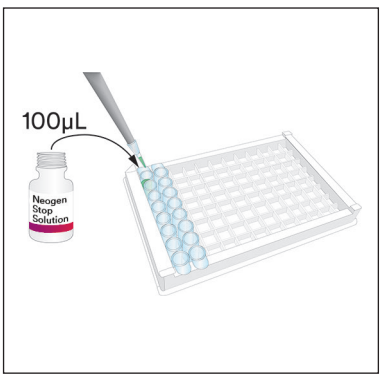


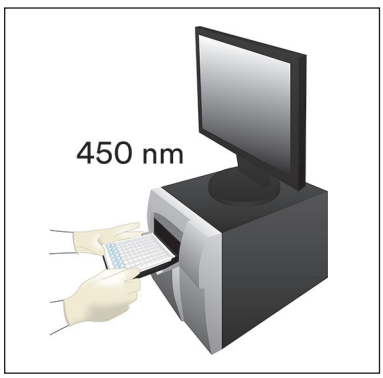












Sonuç Analizi

3.1 Her bir örneğin ortalama arka plan değerini çıkarın (Örneğin ortalama emilim değeri eksi standart 0 ortalama emilim değeri.)

3.2 Dört parametreli lojistik eğri uydurma oluşturabilen bir bilgisayar yazılımı ile ng/mL (ppb) cinsinden konsantrasyonu x eksenine, karşılık gelen her bir standardın emilim değerini y eksenine çizerek bir standart eğri oluşturun. İkinci derece çok terimli (ikilenik) veya başka eğri uydurma türleri de kullanılabilir, ancak bunlar daha az hassas bir veri uyumu sağlayacaktır.

3.3 Standart eğrinin dışındaki örnek konsantrasyonlarını hesaplayın. Sonuç birimi ng/mL (ppb) olacaktır. Ardından, örneğin ilk halinin konsantrasyonunu elde etmek için seyreltme katsayısıyla çarpın. Örneğin, toplam seyreltme oranı 1/100 ve standart eğrinin örnek konsantrasyonu 200 ng/mL (ppb) ise örneğin son konsantrasyonu 200 ng/mL x 100 = 20.000 ng/mL (ppb), yani 20 µg/mL (ppm) olacaktır.

Minimum Performans Özellikleri

a. Analitik Algılama Limiti (LOD) 7,2 ng/mL'dir (ppb)

Algılama limiti, belirtilen olasılık seviyesinde gerçek boş örnekten ayırt edilebilen test örneğinde alerjenin en düşük konsantrasyonu olarak tanımlanır[3]. Bu değer, kırk sekiz standart 0 tekrarının ortalama optik yoğunluk değerine üç standart sapmanın eklenmesi ve buna karşılık gelen konsantrasyonun hesaplanmasıyla belirlenir.

b. Ölçüm Limiti (LOQ) 1 ppm'dir

Ölçüm limiti, belirtilen hassaslık seviyesinde makul düzeyde ölçülebilen bir test örneğindeki en düşük alerjen seviyesi olarak tanımlanır[3].

Hassaslık

Deney İçi Hassaslık	Ortalama %CV = <10	N=12
Deneyler Arası Hassaslık	Ortalama %CV = <10	N=12

Referanslar

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

Sembollerin Açıklaması

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

NEOGEN

製品情報

軟体類プロテインELISAキット

軟体類タンパク質の定量分析用酵素結合免疫吸着検査（ELISA）キットです。

製品の概要および用途

Neogen® 軟体類プロテインELISAキットは、定置洗浄水（CIP）の最終洗浄水、環境スワブ検体、食材、加工食品に存在する軟体類タンパク質の検出用キットです。

Neogen 軟体類プロテインELISAキットはサンドイッチELISAを利用しています。検体中に存在する軟体類タンパク質は、ポリスチレン製マイクロタイタープレートのウェル表面に吸着された抗軟体類抗体と反応します。洗浄による未結合タンパク質の除去後、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）と結合した抗軟体類抗体を添加します。これらの酵素標識抗体は、以前に結合した軟体類タンパク質と複合体を形成します。2度目の洗浄後、免疫吸着剤に結合した酵素は、発色基質である3,3’,5,5’-テトラメチルベンジジン（TMB）を添加することで検出されます。酵素反応による発色は、検査した検体中の軟体類タンパク質の濃度に応じて直接変化します。したがって、450 nmでの吸光度は、検体中の軟体類タンパク質の濃度を測る指標となります。検体中の軟体類タンパク質量は、既知の濃度標準から描出した標準曲線から外挿でき、検体希釈を考慮して調整できます。

Neogen 軟体類プロテインELISAキットは、検査技術の訓練を受けた技術者が検査室環境で使用することを想定しています。Neogenは、食品または飲料以外の産業における本製品の使用に関しては検証しておりません。たとえば、Neogenは、本製品を医薬品、化粧品、臨床または動物診断検体の検査で使用することについて検証しておりません。Neogen 軟体類プロテインELISAキットは、あらゆる食材、食品製造工程、検査プロトコルについて評価されたわけではありません。

Neogen 軟体類プロテインELISAキットは、表1に記載のとおり96検体用となっています。

表1. キットの内容

品目	特徴	調製 （詳細については「試薬の調製」セクションを参照してください）	保管	安定性
Neogen® 軟体類プロテインELISAウェル	除去可能な抗体でコーティングされた96ウェルプレート1枚入りのホイルバッグ1個。	調整済みです。	乾燥剤を入れたホイルバッグに密封して2～8°Cで保管してください。	未使用のウェルと乾燥剤を入れたホイルバッグを再度密封してください。キットの使用期限まで安定性を維持するには、2～8°Cで保管してください。
Neogen® 軟体類HRPコンジュゲート（10倍）	10倍西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）標識抗体（10倍）1.5 mL入りのバイアル1本。	使用直前に1/10に希釈して、1倍の希釈標準溶液を調製してください。	暗所にて2～8°Cで保管してください。	10倍コンジュゲートはキットの使用期限まで安定性を維持します。
Neogen® 軟体類プロテイン標準濃縮液	既知濃度の軟体類タンパク質濃縮液入りのバイアル1本。	標準的な調製手順については、「ELISAの手順」セクションを参照してください。	2～8°C。冷凍しないでください。	Neogen 軟体類プロテイン標準濃縮液は、キットの使用期限まで安定性を維持します。
Neogen® 希釈液（5倍）	5倍希釈液50 mL入りのボトル1本。	使用直前に1/5に希釈して、1倍の希釈標準溶液を調製してください。	2～8°C	5倍のNeogen 希釈溶液は、キットの使用期限まで安定性を維持します。

Neogen® 洗浄液（20倍）	20倍洗浄液50 mL入りのボトル1本。	1/20に希釈して1倍の希釈標準溶液を調製してください。	1倍希釈標準溶液と20倍洗浄液濃縮液のいずれも2～8°Cで保管してください。	20倍のNeogen 洗浄液は、キットの使用期限まで安定性を維持します。1倍洗浄液は、調製後1週間以上安定性を維持します。
Neogen® 抽出緩衝液 E26（4倍）	4倍抽出緩衝液120 mL入りのボトル1本。	1/4に希釈して1倍の希釈標準溶液を調製してください。使用前に、希釈標準溶液を50～60°Cに加熱してください。	1倍希釈標準溶液と4倍のNeogen 抽出緩衝液のいずれも2～8°Cで保管してください。	1倍抽出緩衝液と4倍のNeogen 抽出緩衝液は、キットの使用期限まで安定性を維持します。
Neogen® 発色基質溶液	3,3’,5,5’-テトラメチルベンジジン（TMB）12 mL入りのボトル1本。	調整済みです。	暗所にて2～8°Cで保管してください。	直射日光を避けてください。Neogen 発色基質溶液は、キットの使用期限まで安定性を維持します。
Neogen® 反応停止液	0.Neogen硫酸12 mL入りのボトル1本。	調整済みです。	2～8°C	Neogen 反応停止液は、キットの使用期限まで安定性を維持します。

キットに同梱されない器具類：

- 精密ピペットおよびピペットチップ（10～100 µL採取用）
- 試験管
- マイクロタイタープレート洗浄機／アスピレーター
- 蒸留水または脱イオン水
- マイクロタイタープレートリーダー
- 試薬および緩衝液調製用の各種実験機器
- タイマー
- 撹拌機
- 振盪水槽または振盪培養器
- オービタルシェーカー

安全性

Neogen 軟体類プロテインELISAキットをご使用になる前に、本書に記載されたすべての安全情報をお読みになり、よく理解し遵守してください。また、これらの情報は大切に保管してください。

⚠ **警告：** 適切な危険予防措置が行われていない場合、死亡または重篤な傷害や、物的損害が発生する可能性があります。

注記： 適切な危険予防措置が行われていない場合、危険な状況により物的損害が発生する場合があります。

⚠ 警告

化学物質の曝露に関連する危険を回避するために：

- 現行の行政規制および産業基準に従って廃棄してください。
- 検査実施担当者に現行の適切な検査技術を身につけるように指導してください（例：GLP[1]またはISO/IEC 17025[2]）。
- 試薬を取り扱う際は、適切な保護衣、保護メガネの装着など、標準的な検査室の安全手順に常に従ってください。
- Neogen 反応停止液が皮膚に接触しないようにしてください。その他の安全に関する情報は、安全データシートを参照してください。

汚染物質の放出につながる偽陰性の結果に伴う危険を回避するために：

- Neogen 軟体類プロテインELISAキットは、外装表示および製品情報に記載のとおりに保管してください。
- Neogen 軟体類プロテインELISAキットは、社内または第三者による検証を行った食品検体および環境検体に使用してください。

- プロトコルに従い、製品情報に記載のとおりに検査を行ってください。
- Neogenは、食品または飲料以外の産業におけるNeogen 軟体類プロテインELISAキットの使用に関しては検証しておりません。たとえば、Neogenは、本製品を医薬品、化粧品、臨床または動物診断検体の検査で使用することについて検証しておりません。

汚染物質の放出につながる不正確な測定結果に伴う危険を回避するために：

- Neogen 軟体類プロテインELISAキットは使用期限までに必ず使用してください。
- 希釈標準液を調製する際は、Neogen 軟体類プロテインELISAキットを、必ず20～25°Cで使用してください。
- Neogen 軟体類プロテイン標準濃縮液を冷凍しないでください。
- 発色基質溶液が青く変色している場合は、使用しないでください。Neogen 発色基質溶液の交差汚染を回避するため、GLP[1]に従ってください。
- Neogen® アレルゲンプロテイン測定キットは、タンパク加水分解物を対象としたものではありません。
- Neogen アレルゲンプロテイン測定キットは、加工食品のタンパク質をNeogen 抽出緩衝液に可溶化して検出するように設計されています。食品の加工方法によっては対象のタンパク質の検出が制限される場合があります。
- 食品の加工方法がNeogen アレルゲンプロテイン測定キットのタンパク質の検出に影響を及ぼす場合があります。検査方法が目的に適合し、要求事項を満たすことを確認してください。

注記

不正確な測定結果に伴う危険を回避するために：

- 抽出後検体の安定性は評価されていません。ELISA手順は、検体の抽出直後に実施する必要があります。
- 検体の交差汚染を回避するため、Neogen 軟体類プロテイン標準濃縮液はGLP[1]に従って取り扱ってください。

その他の情報については製品安全データシートを参照してください。

製品性能に関する資料の詳細をご希望の場合は、当社のWebサイト（www.neogen.com）をご覧いただくか、Neogen販売担当者またはお近くの販売店までお問い合わせください。

お客様の使用責任

お客様には、使用前に添付文書および製品情報を熟読し、情報に精通する責任があります。詳細につきましては、当社ウェブサイト**www.neogen.com**をご覧いただくか、お近くのNeogen販売担当者または販売店にお問い合わせください。

食品分析で使用されるあらゆる検査方法と同様に、試験マトリックスが結果に影響を及ぼす可能性があります。検査方法を選択する際には、サンプリング方法、検査プロトコル、サンプルの準備、取り扱い、および検査手技などの外的要因が結果に影響することを認識することが重要です。食品サンプルそのものが結果に影響することもあります。

十分な数のサンプルを評価して、その検査方法がお客様の基準を満たしていると納得できる検査方法または製品を選択することは、お客様の責任となります。

また、その検査方法および結果が顧客あるいは供給業者の要求を満たしているかについても、お客様の判断となります。

どの検査方法を使用した場合でも、Neogen食品衛生管理製品を使用して得られた結果により、検査で使用した食材または工程中の品質を保証するものではありません。

保証の制限／限定的救済策

個々の製品パッケージの限定保証条項に明示されている場合を除き、NEOGENは明示または黙示を問わず、商品性または特定の目的への適合性に関する保証を含むがこれに限定されない、あらゆる種類の保証も負いかねます。Neogen食品衛生部門の製品に欠陥があった場合、Neogenまたは取扱販売店で交換あるいは返品処理をいたします。対応は上記のみとさせていただきます。ご不明な点がございましたら、Neogenの担当者またはNeogenの正規卸売業者にお問い合わせください。

Neogenの保証責任範囲

NEOGENは、直接的・間接的、特殊、偶発的または必然的を問わず、利益損失を含むがこれに限定されないあらゆる損失に対しての責任を放棄します。いかなる場合においても、あらゆる法的理論に対しても、Neogenの保証責任範囲は、欠陥と認められた製品の購入金額を超えることはありません。

保管と廃棄

Neogen 軟体類プロテインELISAキットの内容物は、2～8°Cで保管してください。冷凍しないでください。希釈した希釈標準液は、表1に記載のとおり保存してください。

Neogen 軟体類プロテインELISAキットの内容物が使用期限を過ぎた場合は、使用しないでください。使用期限およびロット番号は外箱ラベルに記載されています。

現行の行政規制および産業基準に従って廃棄してください。

使用方法
すべての指示に、注意深く従ってください。従わない場合、正確な結果が得られないことがあります。

試薬の調製
使用前に、すべての試薬を周囲温度（20～25°C）に戻してください。清潔な実験機器を使用して希釈標準液を希釈し、保管します。

a. Neogen 抽出緩衝液

1倍抽出緩衝液を調製するには、Neogen 抽出緩衝液（4倍）1を添加し、脱イオン水または蒸留水3で希釈します。使用前に、水槽または振盪培養器で抽出緩衝液（1倍）をあらかじめ50～60°Cに加温してください。各検体につき、1倍抽出緩衝液4.5 mLが必要です。

b. Neogen 希釈溶液

1倍希釈溶液を調製するには、Neogen 希釈液（5倍）1を、脱イオン水または蒸留水4に添加します。各検体につき、1倍希釈溶液4.5 mLが必要です。

c. Neogen 洗浄液

1倍洗浄液を調製するには、Neogen 洗浄液（20倍）1を、脱イオン水または蒸留水19に添加します。各Neogen ELISAウェルにつき、1倍洗浄液約2.5 mLが必要です。

注：Neogen 洗浄液（20倍）を2～8°Cで保存すると、液中に結晶が発生することがあります。洗浄液（1倍）の調製前に、Neogen 洗浄液（20倍）を水槽または振盪培養器で30～35°Cに加温してください。

d. Neogen 軟体類HRPコンジュゲート

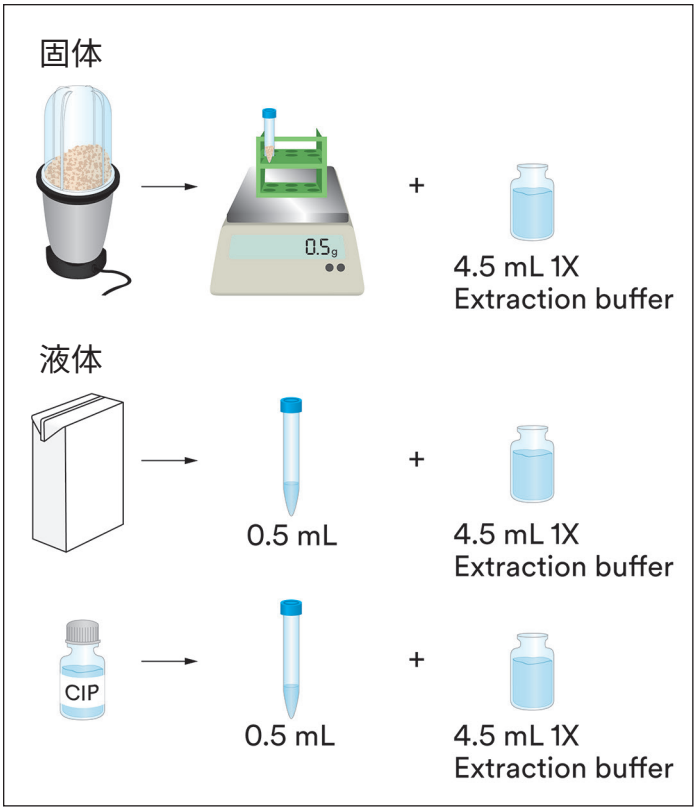
1倍軟体類HRPコンジュゲートを調製するには、Neogen 軟体類HRPコンジュゲート（10倍）1を添加し、**1倍希釈溶液**9で希釈します。使用直前に調製してください。各Neogen ELISAウェルにつき、1倍軟体類HRPコンジュゲート100 µLが必要です。

検体の準備
注：検体はすべて、あらかじめ50～60°Cに加温した1倍緩衝液で抽出してください。

1.1　表2に記載のとおり、清潔な試験管または使い捨てチューブでタンパク質抽出用検体を調製します。

表2. 検体の準備

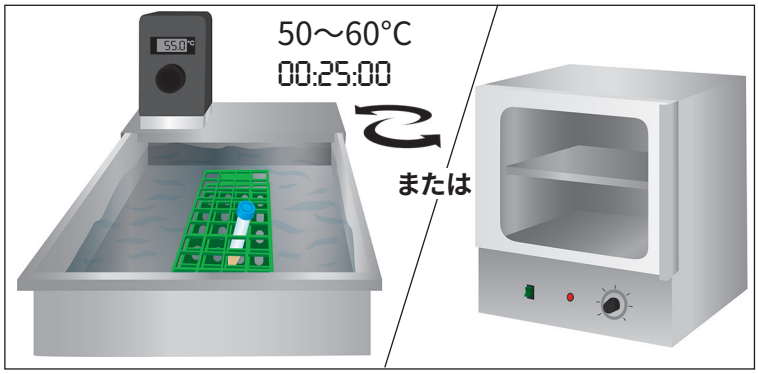
検体マトリックス	検体量	希釈液（1/10）
固形食品	0.5±0.02 g	あらかじめ加温した1倍抽出緩衝液4.5±0.09 mLを添加します
液体食品	0.5±0.01 mL	あらかじめ加温した1倍抽出緩衝液4.5±0.09 mLを添加します
定置洗浄（CIP）最終洗浄水	0.5±0.01 mL	あらかじめ加温した1倍抽出緩衝液4.5±0.09 mLを添加します

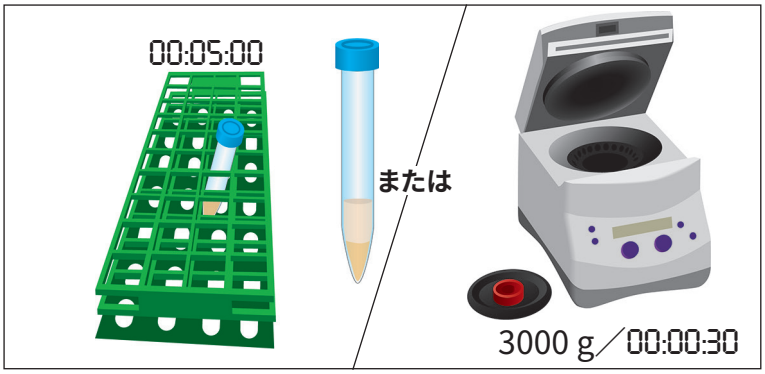


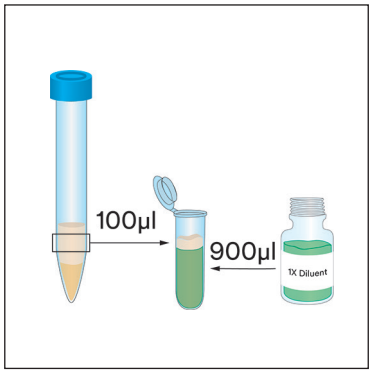
1.2 希釈した検体を、振盪水槽または振盪培養器で50～60°C、25±1分間培養します。別法として、検体を50～60°Cの水槽または培養器に入れ、5分ごとに1分間手で振盪します。

1.3 培養後、検体を5000～7000 rpm（3000 x *g*）で20～30秒間遠心分離して微粒子をペレット化するか、試験管ラックで5分間沈殿させます。

1.4 中間層（水層）から100 µLを採取し、希釈溶液（1倍）900 µLに添加します。撹拌機にかけるか、振盪して十分に混合します（この検体は原検体の1/100希釈に相当します）。







ELISA手順

2.1 1検体または1標準溶液につきNeogen ELISAウェルを1つ取り出し、ウェルをウェルホルダーにセットします。未使用のNeogen ELISAウェルをホイルパウチに戻し、再度密封して2～8°Cの保管庫に戻します。

2.2 Neogen 軟体類プロテイン標準濃縮液を使用して、希釈溶液（1倍）で希釈した標準溶液を4セット調製します。

標準番号	標準濃度 (ng/mL)	1倍希釈液に添加した標準溶液の容量	1倍希釈溶液の容量
4	270	Neogen 軟体類プロテイン標準濃縮液10 µL	990 µL
3	90	標準溶液4 200 µL	400 µL
2	30	標準溶液3 200 µL	400 µL
1	10	標準溶液2 200 µL	400 µL
0	0	0	400 µL

2.3 各標準溶液100 µLをピペットでNeogen ELISAウェルに滴下します。

- 標準溶液0（1倍希釈溶液）
- 標準溶液1（10 ng/mL）ppb
- 標準溶液2（30 ng/mL）ppb
- 標準溶液3（90 ng/mL）ppb
- 標準溶液4（270 ng/mL）ppb

2.4 1.4で調製した抽出検体100 µLをピペットでNeogen ELISAウェルに滴下します。

2.5 Neogen ELISAウェルを400 rpmに設定したオービタルシェーカーで周囲温度（20～25°C）にて30±2分間培養します。このステップ中は、ウェルにカバーをかけて水平に保ち、蒸発を防いでください。

2.6 培養後、Neogen ELISAウェルの内容物を吸引します。

2.7 各Neogen ELISAウェルを1倍洗浄液で完全に満たし、吸引します。手作業で洗浄する場合は、プレートを逆さにして内容物を廃棄容器に注ぎ入れるか振り落とし、吸収紙上にウェルを叩き付けて、残った洗浄液を落とします。1回の洗浄につきこの手順を3回繰り返し、合計4回洗浄します。

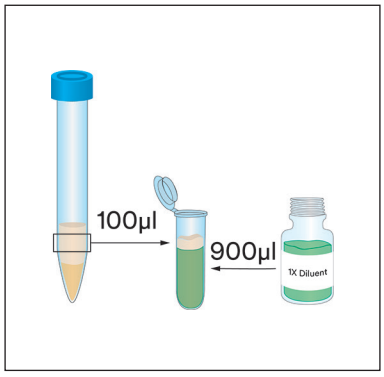
2.8 1倍軟体類HRPコンジュゲート100 µLをピペットで各Neogen ELISAウェルに滴下します。400 rpmに設定したオービタルシェーカーで、ウェルを周囲温度で10±2分間培養します。このステップ中はプレートにカバーをかけ、暗所で水平に保ちます。

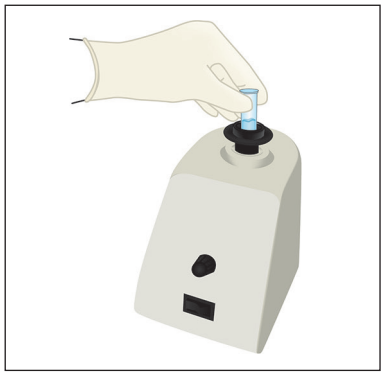
2.9 ステップ2.6と2.7を繰り返し、洗浄液（1倍）で合計4回洗浄します。

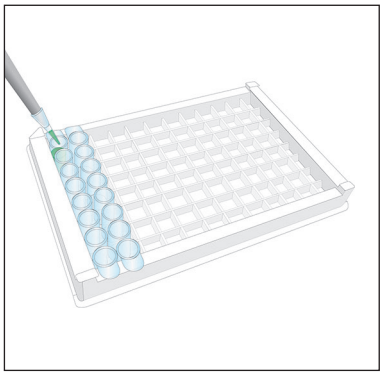
2.10 Neogen 発色基質溶液（TMB）100 µLをピペットで各Neogen ELISAウェルに滴下します。

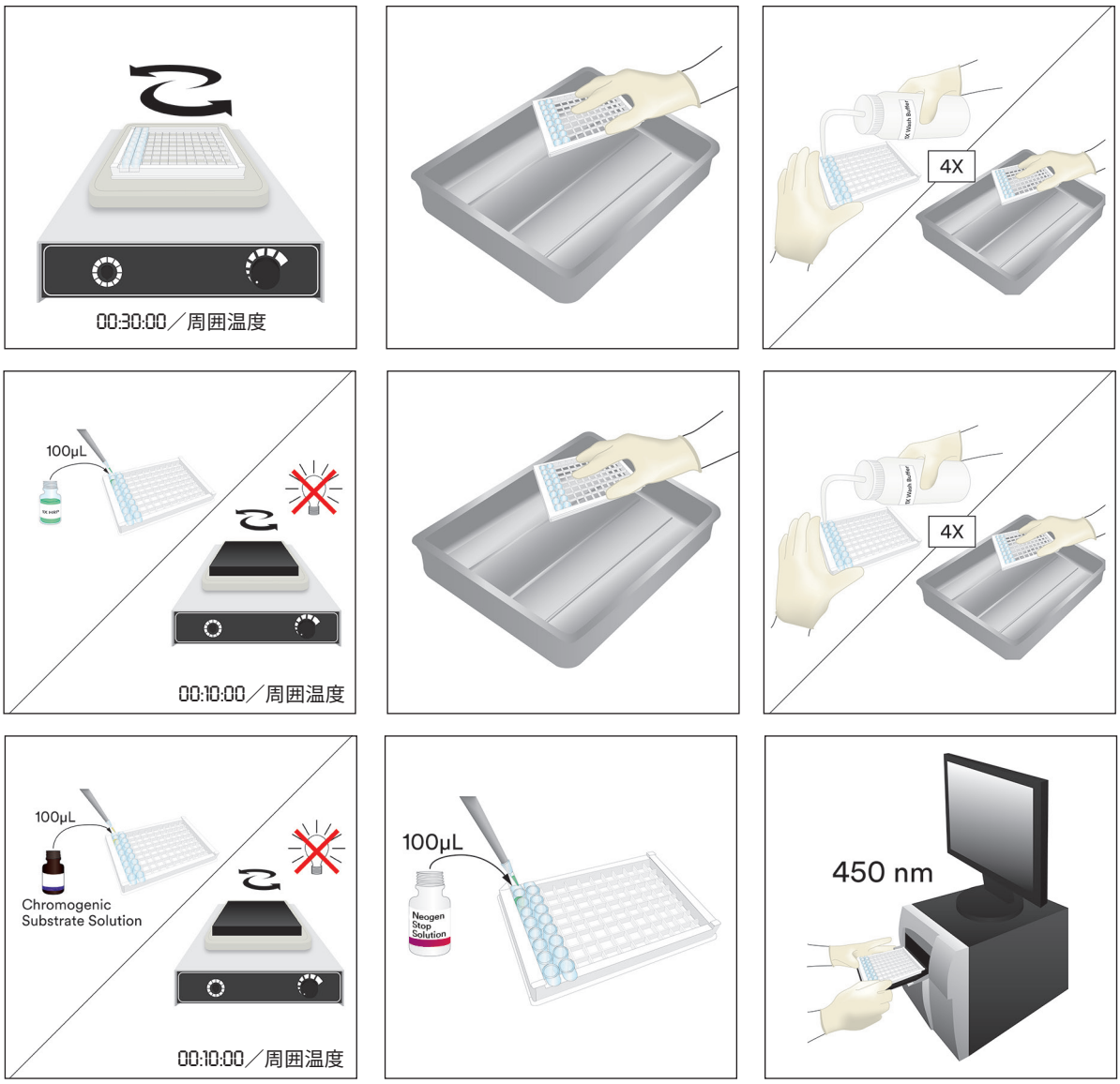
2.11 400 rpmに設定したオービタルシェーカーで、ウェルを周囲温度で10分間培養します。このステップ中はプレートにカバーをかけ、暗所で水平に保ちます。

2.12 培養後、各Neogen ELISAウェルにNeogen 反応停止液100 µLを添加し、30分以内に吸光度（450 nm）を測定します。









結果の分析

3.1 各検体の平均バックグラウンド値を差し引きます（検体の平均吸光度－標準溶液0の平均吸光度）。

3.2 4パラメーターロジスティック曲線適合を描出できるコンピューターソフトウェアを用いて、x軸上に濃度をng/mL（ppb）で、y軸上に対応する各標準溶液の吸光度をプロットすることにより、標準曲線（検量線）を描きます。二次多項式（二次方程式）や他の曲線適合も使用できますが、データ適合の精度はそれほど正確ではありません。

3.3 検量線から検体濃度を算出します。結果の単位はng/mL（ppb）です。次に、検体の希釈係数を乗じて原検体の濃度を得ます。たとえば、検体の総希釈率が1/100であり、検量線の検体濃度が200 ng/mL（ppb）である場合は、最終検体濃度は200 ng/mL x 100 = 20,000 ng/mL（ppb）、すなわち20 µg/ mL（ppm）となります。

最低性能特性

a. 分析の検出限界（LOD）は7.2 ng/mL（ppb）です

検出限界は、特定の確率水準で真のブランク検体と区別できる検体中に存在するアレルゲンの最低濃度です[3]。標準溶液0を48回測定した場合の平均光学濃度値に3倍標準偏差（three standard deviations）を加え、対応する濃度を計算することで算出します。

b. 定量限界（LOQ）は1 ppmです

定量限界は、特定の精度で合理的に定量できる検体中に存在するアレルゲンの最低濃度です[3]。

再現性

併行精度（Intra-Assay Precision）	平均%CV = <10	N = 12
室内再現精度（Inter-Assay Precision）	平均%CV = <10	N = 12

参考文献

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. J. AOAC Int. 93, 442-450.

記号の説明

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

发布日期: 2024-01

NEOGEN®

产品信息

贝类蛋白 ELISA 检测试剂盒

用于定量分析贝类蛋白的酶联免疫吸附试验 (ELISA)。

产品说明及预期用途

Neogen® 贝类蛋白 ELISA 检测试剂盒用于检测就地清洁水 (CIP) 末次漂洗水、环境拭子样品、食品成分和加工食品产品中的贝类蛋白。

Neogen 贝类蛋白 ELISA 检测试剂盒采用夹心 ELISA。样品中存在的贝类蛋白与聚苯乙烯微量滴定孔表面已经吸收的抗贝类抗体发生反应。通过冲洗去除非结合蛋白后，添加与辣根过氧化物酶 (HRP) 共轭的抗贝类抗体。这些酶标抗体与之前结合的贝类蛋白形成络合物。执行第二次冲洗步骤后，通过添加一种显色底物 3,3’ ,5,5’ -四甲基联苯胺 (TMB) 来检测与免疫吸附剂结合的酶。这种酶反应的显色与被测样品中贝类蛋白的浓度成正比变化；因此，450 nm 时的吸收率可用来衡量检测样品中贝类蛋白的浓度。可通过标准曲线推测检测样品中贝类蛋白的量，该标准曲线通过已知浓度的标准构建并且可根据样品稀释情况进行调整。

Neogen 贝类蛋白 ELISA 检测试剂盒专供受过实验室技术培训的专业人员在实验室环境下使用。对于在食品或饮料以外的行业中使用此产品，Neogen 尚未有资料可证。例如，对于此产品用于检测制药、化妆品、临床或家畜样品，Neogen 尚未有资料可证。尚未针对所有可能的食品产品、食品加工和检测方案评估 Neogen 贝类蛋白 ELISA 检测试剂盒。

Neogen 贝类蛋白 ELISA 检测试剂盒包含 96 个检测孔，如表 1 所述。

表 1. 检测试剂盒组件

项目	标识	准备工作（请参见“试剂准备”部分了解详细信息）	存储	稳定性
Neogen® 贝类蛋白 ELISA 检测孔	一个铝箔袋，内有含 96 个可移除抗体涂层孔的测试片。	可以使用。	2-8°C 下存储在含有干燥剂的密封铝箔袋中。	重新密封内含未用检测孔和干燥剂的铝箔袋。在检测试剂盒到期日期之前，存储在 2-8°C 下以维持稳定性。
Neogen® 贝类 HRP 共轭剂 (10X)	一瓶 1.5 mL 的 10X 辣根过氧化物酶 (HRP) 共轭抗体 (10X)。	在就要使用前稀释 1/10，以制备 1X 工作溶液。	2-8°C 下避光存储。	10X 共轭剂在检测试剂盒到期日期之前很稳定。
Neogen® 贝类蛋白标准浓缩液	一瓶已知浓度的贝类蛋白。	请参阅 ELISA 程序部分了解标准制备。	2-8°C。请勿冰冻。	Neogen 贝类蛋白标准浓缩液在检测试剂盒到期日期之前很稳定。
Neogen® 稀释液 (5X)	一瓶 50 mL 的 5X 稀释液。	在就要使用前稀释 1/5，以制备 1X 工作溶液。	2-8°C	5X Neogen 稀释溶液在检测试剂盒到期日期之前很稳定。
Neogen® 冲洗溶液 (20X)	一瓶 50 mL 的 20X 冲洗溶液。	稀释 1/20 以制备 1X 工作溶液。	1X 工作溶液和 20X 冲洗溶液浓缩液均存储在 2-8°C 下。	20X Neogen 冲洗溶液在检测试剂盒到期日期之前很稳定。1X 冲洗溶液至少在制备后的一周内很稳定。

Neogen® 提取缓冲液 E26 (4X) 	一瓶 120 mL 的 4X 提取缓冲液。	稀释 1/4 以制备 1X 工作溶液。在使用前，应将工作溶液加热到 50-60°C。	1X 工作溶液和 4X Neogen 提取缓冲液浓缩液均存储在 2-8°C 下。	1X 提取缓冲液和 4X Neogen 提取缓冲液在检测试剂盒的到期日期之前很稳定。
Neogen® 显色底物溶液 	一瓶 12 mL 的 3,3’ ,5,5’ -四甲基联苯胺 (TMB)。	可以使用。	2-8°C 下避光存储。	避光。Neogen 显色底物溶液在检测试剂盒到期日期之前很稳定。
Neogen® 停止溶液 	一瓶 12 mL 的 0.3 M 硫酸。	可以使用。	2-8°C	Neogen 停止溶液在检测试剂盒到期日期之前很稳定。

检测试剂盒中未提供的材料：

- 容量为 10 到 100 µL 的精密滴管和滴管针
- 试管
- 微量滴定板清洗器/抽吸器
- 蒸馏水或去离子水
- 微量滴定板读取器
- 制备试剂和缓冲液的实验器具
- 定时器
- 漩涡振荡器
- 振荡水浴或振荡培养设备
- 定轨振荡器

安全

用户应该阅读、理解并遵守 Neogen 贝类蛋白 ELISA 检测试剂盒说明中的所有安全信息。妥善保存安全说明书，以备日后查阅。

⚠ **警告：** 表示危险情况，如果不注意避免，可能造成死亡或严重的人身伤害和/或财产损失。

注意： 表示潜在的危险情况，如果不注意避免，可能导致财产损失。

⚠ 警告

为了减少与化学品暴露相关联的风险，请注意以下事项：

- 根据现行当地/地区/国家/行业标准和法规弃置。
- 用户必须就当前适用的检测技术对其人员进行培训；例如，优良实验室规范[1] 或 ISO/IEC 17025[2]。
- 始终遵守标准实验室安全规范，包括在处理试剂时穿戴适当的防护服和眼睛防护装置。
- 避免皮肤接触 Neogen 停止溶液，请参阅安全数据表了解其他安全信息。

为了降低与假阴性结果相关联的风险，避免释放出受污染产品，请注意以下事项：

- 请按照包装和产品信息中的指示存储 Neogen 贝类蛋白 ELISA 检测试剂盒。
- 将 Neogen 贝类蛋白 ELISA 检测试剂盒用于经内部或第三方验证过的食品和环境样品。
- 遵守方案并按照产品信息中提供的方法执行检测。
- 对于在食品或饮料以外的行业中使用 Neogen 贝类蛋白 ELISA 检测试剂盒，Neogen 尚未有资料可证。例如，对于此产品用于检测制药、化妆品、临床或家畜样品，Neogen 尚未有资料可证。

为了降低与结果不准确相关联的风险，避免释放出受污染产品，请注意以下事项：

- 始终在过期日期之前使用 Neogen 贝类蛋白 ELISA 检测试剂盒。
- 始终在 20-25°C 的温度下使用 Neogen 贝类蛋白 ELISA 检测试剂盒浓缩试剂制备工作溶液。
- 请勿冷冻 Neogen 贝类蛋白标准浓缩液。
- 如果显色底物溶液变蓝，请勿使用。遵循优良实验室规范[1] 以避免 Neogen 显色底物溶液交叉污染。
- Neogen® 过敏原蛋白检测试剂盒不适用于水解蛋白的检测

- Neogen过敏原蛋白试剂盒用于测定可在Neogen提取缓冲液中溶解的食物蛋白，某些食品加工方式可能会限制目标蛋白的检测。
- 使用Neogen过敏原蛋白试剂盒测定食品中蛋白可能会受某些食品加工方式的影响，用户应验证该方法是否能够满足用户的需求。

注意

为了降低与结果不准确相关联的风险，请注意以下事项：

- 尚未评估提取后的样品稳定性。应在样品提取之后立即执行 ELISA 程序。
- 按照优良实验室规范[1] 处理 Neogen 贝类蛋白标准物以防止样品交叉污染。

请参阅安全数据表以了解其他信息。

有关产品性能文献资料的信息，请访问我们的网站 www.neogen.com，也可与您当地的 Neogen 代表或经销商联系以获得帮助。

用户责任

用户负责熟悉本产品的说明和信息。请访问我们的网站 **www.neogen.com** 或联系您当地的 Neogen 代表或经销商，以了解更多信息。

正如所有食品分析检测方法一样，检测基质可能影响结果。选择检测方法时，务必认识到各种外部因素（如取样方法、检测方案、样品制备、处理和实验室技术）都可能会影响结果。食品样品本身可能会影响结果。

用户在选择检测方法或产品时，应自行负责对足够多的样品进行评估，以确保所选择的检测方法符合用户的标准。

用户也应自行负责确定任何检测方法和结果符合其客户和供应商的要求。

同所有检测方法一样，使用任何 Neogen 食品安全产品得到的结果，并不保证受检基质或程序的质量。

保证限制/有限补救措施

除非各个产品包装的有限保证部分明确声明，NEOGEN 就所有明示或默示保证做出免责声明，包括但不限于适销性及适合某种特定用途的保证。如果证明任何 Neogen 食品安全产品存在缺陷，Neogen 或其授权经销商可以进行换货或者由其决定是否为该产品进行退款。这些都是专门针对您而设计的解决方案。如有任何疑问，请联系 Neogen 代表或 Neogen 授权经销商。

Neogen 责任限制

NEOGEN 不会对任何损失或损害负责，无论造成的损害是直接、间接、特殊、偶然或随后产生的，包括但不限于利润损失。根据法律理论 Neogen 对所谓存在缺陷的产品的赔付不可能超过产品的购买价格。

存储和弃置

在 2-8°C 下存储所有 Neogen 贝类蛋白 ELISA 检测试剂盒内容物。请勿冰冻。根据表 1 所述存储稀释的工作溶液。

不应在过期日期之后使用 Neogen 贝类蛋白 ELISA 检测试剂盒组件。过期日期和批号注明在包装箱外侧的标签上。

根据现行当地/地区/国家/行业标准和法规弃置。

使用说明

仔细遵循所有说明。否则，可能导致不准确的结果。

试剂准备

在使用前，将所有试剂置于室温 (20-25°C) 下。使用洁净的实验室器具稀释和存储工作溶液。

a. Neogen 提取缓冲液

若要制备 1X 提取缓冲液，添加一份 Neogen 提取缓冲液 (4X) 并在三份去离子水或蒸馏水中稀释。在使用前，在水浴或振荡培养设备中将提取缓冲液 (1X) 预热到 50-60°C。每个样品需要 4.5 mL 的 1X 提取缓冲液。

b. Neogen 稀释溶液

若要制备 1X 稀释溶液，将一份 Neogen 稀释液 (5X) 添加到四份去离子水或蒸馏水中。每个样品总共需要 4.5 mL 的 1X 稀释溶液。

c. Neogen 冲洗溶液

若要制备 1X 冲洗溶液，将一份 Neogen 冲洗溶液 (20X) 添加到 19 份去离子水或蒸馏水。每个 Neogen ELISA 检测孔需要大约 2.5 mL 的 1X 冲洗溶液。

注：当存储在 2-8°C 下时，Neogen 冲洗溶液 (20X) 中可能会形成晶体。若要溶解晶体，在制备冲洗溶液 (1X) 之前，在水浴或培养设备中将 Neogen 冲洗溶液 (20X) 加热到 30-35°C。

d. Neogen 贝类 HRP 共轭剂

若要制备 1X 贝类 HRP 共轭剂，添加一份 Neogen 贝类 HRP 共轭剂 (10X) 并在 9 份 **1X 稀释溶液**中稀释。在就要使用前制备。每个 Neogen ELISA 检测孔需要 100 µL 的 1X 贝类 HRP 共轭剂。

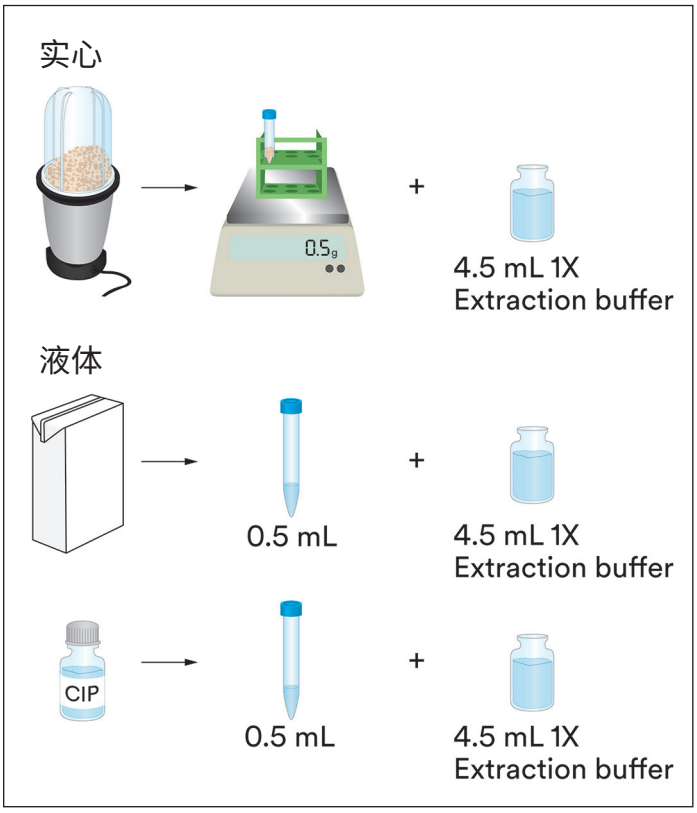
样品制备

注：应使用已预热到 50-60°C 的 1X 提取缓冲液提取所有样品。

1.1 根据表 2 所述在洁净的试管或一次性试管中制备用于蛋白提取的样品。

表 2. 样品制备

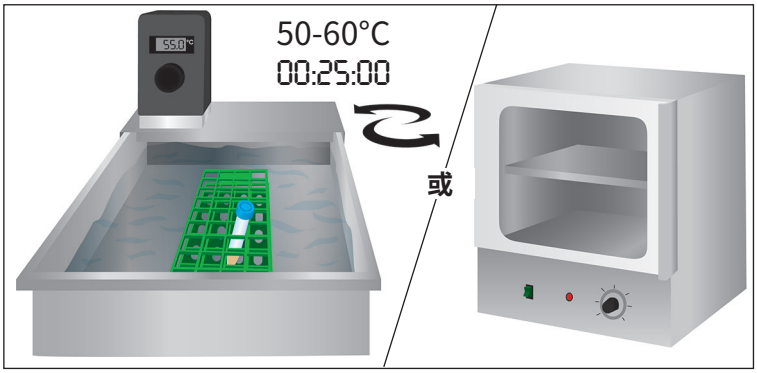
样品基质	样品大小	稀释液 (1/10)
固体食品	0.5 ± 0.02 g	添加 4.5 ± 0.09 mL 的预热 1X 提取缓冲液
液体食品	0.5 ± 0.01 mL	添加 4.5 ± 0.09 mL 的预热 1X 提取缓冲液
就地清洁 (CIP) 末次漂洗水	0.5 ± 0.01 mL	添加 4.5 ± 0.09 mL 的预热 1X 提取缓冲液

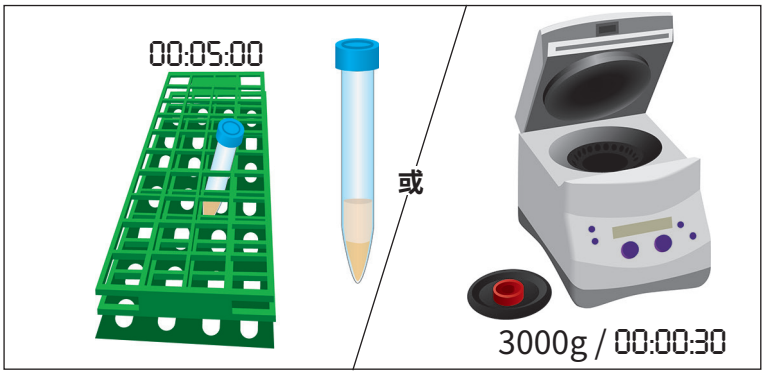


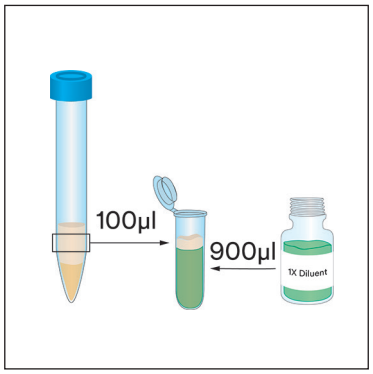
1.2 在 50-60°C 下将稀释的样品置于振荡水浴或振荡培养设备中培养 25 ± 1 分钟。另一个选择是，在 50-60°C 下将样品置于水浴或培养设备中，并每隔 5 分钟手动摇晃 1 分钟。

1.3 培养后，在 5000-7000 rpm (3000 x *g*) 下用离心机处理样品 20 到 30 秒，以形成微粒球，或让样品在试管架中沉淀 5 分钟。

1.4 从中间（水）层收集 100 µL 并将其添加到 900 µL 的稀释溶液 (1X) 中。用漩涡振荡器振荡或摇晃以均匀混合（这对应于原始样品的 1/100 稀释液。）。







ELISA 程序

2.1 为每个样品和/或标准取出一个 Neogen ELISA 检测孔，并将检测孔置于检测孔支架中。将未使用的 Neogen ELISA 检测孔放回铝箔袋中，重新密封并放回 2-8°C 下存储。

2.2 使用 Neogen 贝类蛋白标准浓缩液制备稀释于稀释溶液 (1X) 中的一组四份标准物。

标准物编号	标准浓缩液 (ng/mL)	添加到 1X 稀释液中的标准体积	1X 稀释溶液的体积
4	270	10 µL 的 Neogen 贝类蛋白标准浓缩液	990 µL
3	90	200 µL 的标准物编号 4	400 µL
2	30	200 µL 的标准物编号 3	400 µL
1	10	200 µL 的标准物编号 2	400 µL
0	0	0	400 µL

2.3 用滴管将 100 µL 的每份标准物转移到 Neogen ELISA 检测孔中。

- 标准物 0 (1X 稀释溶液)
- 标准物 1 (10 ng/mL) ppb
- 标准物 2 (30 ng/mL) ppb
- 标准物 3 (90 ng/mL) ppb
- 标准物 4 (270 ng/mL) ppb

2.4 用滴管将 100 µL 在 1.4 中制备的样品提取物转移到 Neogen ELISA 检测孔中。

2.5 在环境温度下 (20-25°C)，将 Neogen ELISA 检测孔置于设为 400 rpm 的定轨振荡器中 30 ± 2 分钟。在此步骤中将检测孔盖住并保持水平以防止蒸发。

2.6 培养后，抽吸 Neogen ELISA 检测孔的内容物。

2.7 使用 1X 冲洗溶液将 Neogen ELISA 检测孔完全充满并抽吸。如果手动进行冲洗，倒置测试片并将内容物倾倒/抖到废物容器中，并在吸水纸上剧烈敲击检测孔，以去除残留的冲洗溶液。重复此步骤三次，一共冲洗四次。

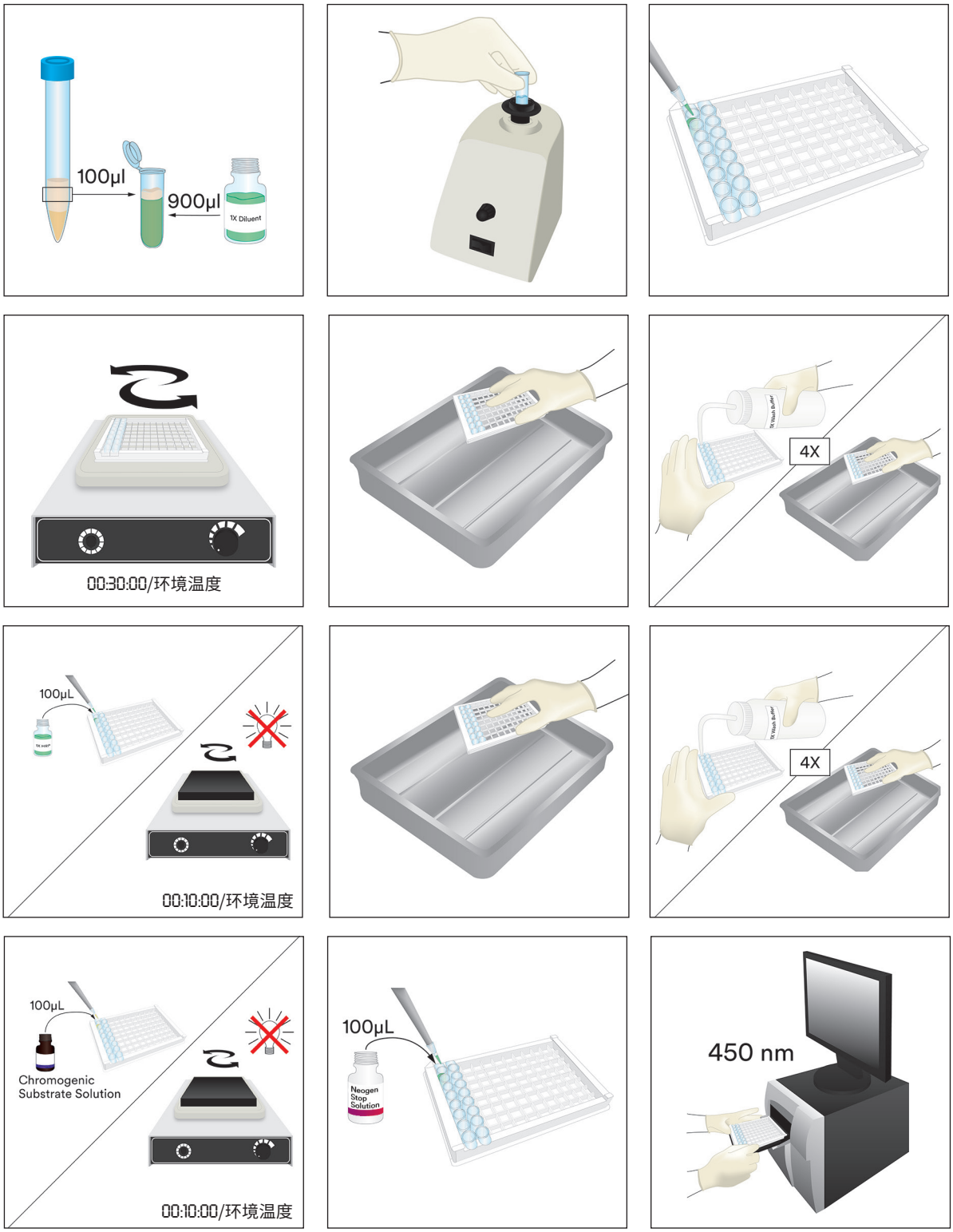
2.8 用滴管将 100 µL 的 1X 贝类 HRP 共轭剂转移到每个 Neogen ELISA 检测孔中。在环境温度下，置于设为 400 rpm 的定轨振荡器中 10 ± 2 分钟。在此步骤中将测试片盖住、避光并保持水平。

2.9 重复步骤 2.6 和 2.7 以便使用冲洗溶液 (1X) 完成总共四次冲洗。

2.10 用滴管将 100 µL 的 Neogen 显色底物溶液 (TMB) 转移到每个 Neogen ELISA 检测孔中。

2.11 在环境温度下，置于设为 400 rpm 的定轨振荡器中 10 分钟。在此步骤中将测试片盖住、避光并保持水平。

2.12 孵育后，向每个 Neogen ELISA 检测孔中添加 100 µL 的 Neogen 停止溶液并在 30 分钟内确定吸收率（在 450 nm 时）。



结果分析

3.1 减去每个样品的平均背景值（样品的平均吸收率读数减去标准 0 的平均吸收率读数。）

3.2 使用能够生成四参数逻辑曲线拟合的计算机软件，通过在 x 轴上绘制浓度（单位 ng/mL (ppb)）并在 y 轴上绘制每个相应标准的吸收率读数来构建标准曲线。还可使用二阶多项式（二次方程）或其他曲线拟合；但是，这些拟合的数据拟合精度较低。

3.3 从标准曲线计算样品浓度，结果单位是 ng/mL (ppb)。然后，乘以样品稀释系数，得到原始样品的浓度。例如，如果样品的总稀释为 1/100，并且标准曲线的样品浓度是 200 ng/mL (ppb)，则最终样品浓度是 200 ng/mL x 100 = 20,000 ng/mL (ppb)，即 20 µg/mL (ppm)。

最低性能特征

a. 分析检测限制 (LOD) 是 7.2 ng/mL (ppb)

检测限制定义为检测样品中过敏原的最低浓度，只有达到这个浓度，才能在指定概率水平区别出检测样品和真正空白样品[3]。可通过将三个标准偏差与四十八次标准 0 重复的平均光密度值相加并计算相应浓度来确定此检测限制。

b. 定量限制 (LOQ) 是 1 ppm

定量限制定义为检测样品中过敏原的最低水平，只有达到这个水平，才能在指定精度水平合理定量过敏原[3]。

精度

批内精度	平均 %CV = <10	N=12
批间精度	平均 %CV = <10	N=12

参考资料

1. 美国 食品药品监督管理局。《美国联邦法规》(Code of Federal Regulations) 第 21 篇，第 58 部分。非临床良好实验室操作规范。
2. ISO/IEC 17025。用于检验和定标实验室能力的一般要求。
3. Abbott, M.、Hayward, S.、Ross, W.、Godefroy, S.B.、Ulberth, F.、Van Hengel, A. J.、Roberts, J.、Akiyama, H.、Popping, B.、Yeung, J.M.、Wehling, P.、Taylor, S.、Poms, R.E. 和 Delahaut, P (. 2010 年)。附录 M：定量食物过敏原 ELISA 方法的验证程序：通用指南和最佳做法。*J. AOAC Int.* 93, 442-450。

符号说明

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

NEOGEN®

คำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์

ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากมอลลัซค์

การวัดปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนด้วยเทคนิคอีไลซา (ELISA) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของมอลลัซค์

รายละเอียดผลิตภัณฑ์และวัตถุประสงค์การใช้งาน

Neogen® ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากมอลลัซค์ออกแบบมาเพื่อตรวจจับโปรตีนของมอลลัซค์ในน้ำล้างสุดท้ายของการทำความสะอาดแบบไม่ถอดชิ้นส่วน (CIP) ตัวอย่างที่เก็บมาจากสิ่งแวดล้อม ส่วนผสมในอาหาร และผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูป

Neogen ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากมอลลัซค์ใช้ ELISA แบบแซนวิช โปรตีนของมอลลัซค์ที่อยู่ในตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีจำเพาะสำหรับมอลลัซค์ซึ่งดูดซึมไว้ที่พื้นผิวของหลุมพอลิสไตรีนไมโครไทเทอร์แล้ว หลังจากที่ล้างโปรตีนที่ไม่ยึดเกาะออกแล้ว แอนติบอดีจำเพาะสำหรับมอลลัซค์ที่คอนจูเกตกับฮอร์สแรดดิชเปอร์ออกซิเดส (HRP) จะถูกเติมลงไป แอนติบอดีที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์เหล่านี้จะก่อตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับโปรตีนของมอลลัซค์ที่ยึดเกาะก่อนหน้า หลังจากขั้นตอนการล้างครั้งที่สอง การเติมสารโครโมเจนิก, 3,3’,5,5’-เตตระเมทิลเบนซิดีน (TMB) จะทำให้ตรวจพบเอนไซม์ที่ยึดเกาะกับอิมมูโนซอร์เบนท์ การพัฒนาของสีจากปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์นี้แปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของโปรตีนมอลลัซค์ในตัวอย่างที่ทดสอบ ดังนั้น ค่าการดูดกลืนที่ 450 นาโนเมตร จึงเป็นค่าความเข้มข้นของโปรตีนมอลลัซค์ที่วัดได้ในตัวอย่างทดสอบ ปริมาณของโปรตีนมอลลัซค์ในตัวอย่างทดสอบสามารถนำมาเทียบกับเส้นโค้งมาตรฐาน ซึ่งสร้างขึ้นจากมาตรฐานของความเข้มข้นที่ทราบ และปรับตามการเจือจางของตัวอย่าง

Neogen ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากมอลลัซค์ออกแบบมาเพื่อใช้ในสภาพแวดล้อมห้องปฏิบัติการโดยผู้ชำนาญการที่ได้รับการฝึกอบรมด้านเทคนิคห้องปฏิบัติการ Neogen ยังไม่ได้จัดทำเอกสารเกี่ยวกับการใช้ผลิตภัณฑ์นี้ในอุตสาหกรรมอื่น ๆ นอกจากอุตสาหกรรมอาหารหรือเครื่องดื่ม ตัวอย่างเช่น Neogen ยังไม่ได้ออกเอกสารเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์นี้สำหรับการทดสอบตัวอย่างยา ตัวอย่างเครื่องสำอาง ตัวอย่างทางคลินิก หรือตัวอย่างเกี่ยวกับสัตว์ Neogen ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากมอลลัซค์ยังไม่ได้ทำการประเมินกับผลิตภัณฑ์อาหาร กระบวนการแปรรูปอาหาร และระเบียบการทดสอบที่เป็นไปได้ทั้งหมด

Neogen ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากมอลลัซค์ประกอบด้วย 96 หลุม ตามที่อธิบายในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของชุดทดสอบ

รายการ	การจำแนก	การจัดเตรียม (ดูรายละเอียดในส่วนการเตรียมน้ำยา)	การเก็บรักษา	ความเสถียร
Neogen® หลุม ELISA ตรวจหาโปรตีนจากมอลลัซค์	1 ถุงฟอยล์ จะประกอบด้วยเพลทเคลือบแอนติบอดีแบบถอดได้ 96 หลุม	พร้อมใช้งาน	2-8°C ในถุงฟอยล์ที่ซีลพร้อมกับสารดูดความชื้น	ซีลซ้ำถุงฟอยล์ที่บรรจุหลุมและสารดูดความชื้นที่ยังไม่ได้ใช้งาน จัดเก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C เพื่อรักษาความเสถียรจนถึงวันหมดอายุของชุดทดสอบ
Neogen® คอนจูเกต HRP ของมอลลัซค์ (10X)	แอนติบอดี (10X) ที่คอนจูเกตกับฮอร์สแรดดิชเปอร์ออกซิเดส (HRP) 10X ขนาด 1.5 มล. หนึ่งขวดแก้ว	เจือจาง 1/10 ทันทีก่อนใช้งานเพื่อทำให้ได้สารละลายสำหรับใช้งาน 1X	2-8°C ในที่มืด	คอนจูเกต 10X มีความเสถียรจนถึงวันหมดอายุของชุดทดสอบ
Neogen® น้ำยามาตรฐานโปรตีนของมอลลัซค์	โปรตีนของมอลลัซค์ที่ทราบความเข้มข้นหนึ่งขวดแก้ว	โปรดดูการเตรียมสารมาตรฐานในส่วนของขั้นตอน ELISA	2-8°C ห้ามแช่แข็ง	Neogen น้ำยามาตรฐานโปรตีนของมอลลัซค์มีความเสถียรจนถึงวันหมดอายุของชุดทดสอบ
Neogen® สารทำให้เจือจาง (5X)	สารทำให้เจือจาง 5X ขนาด 50 มล. หนึ่งขวด	เจือจาง 1/5 ทันทีก่อนใช้งานเพื่อทำให้ได้สารละลายสำหรับใช้งาน 1X	2-8°C	Neogen สารละลายทำให้เจือจาง 5X มีความเสถียรจนถึงวันหมดอายุของชุดทดสอบ

Neogen® สารละลายสำหรับใช้ล้าง (20X)	สารละลายสำหรับใช้ล้าง 20X ขนาด 50 มล. หนึ่งขวด	เจือจาง 1/20 เพื่อทำสารละลายสำหรับใช้งาน 1X	2-8°C สำหรับทั้งสารละลายสำหรับใช้งาน 1X และน้ำยาเข้มข้นของสารละลายสำหรับใช้ล้าง 20X	Neogen สารละลายสำหรับใช้ล้าง 20X มีความเสถียรจนถึงวันหมดอายุของชุดทดสอบ สารละลายสำหรับใช้ล้าง 1X มีความเสถียรเป็นเวลาอย่างน้อยหนึ่งสัปดาห์หลังจากการเตรียม
Neogen® บัฟเฟอร์การสกัด E26 (4X)	บัฟเฟอร์การสกัด 4X ขนาด 120 มล. หนึ่งขวด	เจือจาง 1/4 เพื่อทำสารละลายสำหรับใช้งาน 1X สารละลายสำหรับใช้งานควรนำมาอุ่นที่ 50-60°C ก่อนใช้งาน	2-8°C สำหรับทั้งสารละลายสำหรับใช้งาน 1X และน้ำยา Neogen บัฟเฟอร์การสกัด 4X	บัฟเฟอร์การสกัด 1X และ Neogen บัฟเฟอร์การสกัด 4X มีความเสถียรจนถึงวันหมดอายุของชุดทดสอบ
Neogen® สารละลายตั้งต้นโครโมเจนิก	3,3',5,5'-เตตระเมทิลเบนซิดีน (TMB) ขนาด 12 มล. หนึ่งขวด	พร้อมใช้งาน	2-8°C ในที่มืด	ป้องกันให้พ้นจากแสง Neogen สารละลายตั้งต้นโครโมเจนิกมีความเสถียรจนถึงวันหมดอายุของชุดทดสอบ
Neogen® สารละลายสำหรับใช้หยุด	กรดซัลฟิวริก 0.3 M ขนาด 12 มล. หนึ่งขวด	พร้อมใช้งาน	2-8°C	Neogen สารละลายสำหรับใช้หยุดมีความเสถียรจนถึงวันหมดอายุของชุดทดสอบ

อุปกรณ์ที่ไม่มีมาให้ในชุด ได้แก่:

- ปีเปตและปีเปตทิปที่มีความแม่นยำสำหรับการเก็บสาร 10 ถึง 100 ไมโครลิตร
- หลอดทดลอง
- เครื่องล้าง/เครื่องดูดแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ
- น้ำกลั่นหรือน้ำที่ขจัดไอออน
- เครื่องอ่านแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ
- อุปกรณ์สำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการชนิดต่าง ๆ สำหรับการเตรียมน้ำยาและสารละลายบัฟเฟอร์
- นาฬิกาจับเวลา
- เครื่องผสมสารแบบหมุนวน
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าหรือตู้บ่มเพาะเชื้อแบบเขย่า
- เครื่องเขย่าสารแนวราบ

ความปลอดภัย

ผู้ใช้ควรอ่าน ทำความเข้าใจ และปฏิบัติตามข้อมูลด้านความปลอดภัยทั้งหมดในคำแนะนำสำหรับ Neogen ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากมอลลัสซ์ เก็บคำแนะนำด้านความปลอดภัยนี้ไว้สำหรับใช้อ้างอิงในอนาคต

⚠ **คำเตือน:** แสดงสถานการณ์ที่เป็นอันตราย ซึ่งหากไม่หลีกเลี่ยง อาจก่อให้เกิดการเสียชีวิตหรือการบาดเจ็บรุนแรงและ/หรือความเสียหายต่อทรัพย์สิน

ข้อสังเกต: ระบุสถานการณ์ที่อาจเป็นอันตราย หากไม่หลีกเลี่ยง อาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อทรัพย์สิน

⚠คำเตือน

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสสารเคมี ควรปฏิบัติดังนี้

- กำจัดทิ้งตามระเบียบและมาตรฐานอุตสาหกรรม/ท้องถิ่น/ภูมิภาค/ประเทศในปัจจุบัน
- ผู้ใช้ต้องฝึกอบรมบุคลากรของตนเกี่ยวกับเทคนิคการทดสอบที่เหมาะสมในปัจจุบัน ตัวอย่างเช่น แนวทางในการปฏิบัติที่ดีของห้องปฏิบัติการ (Good Laboratory Practices)[1] หรือ ISO/IEC 17025[2]

- ปฏิบัติตามแนวทางในการปฏิบัติด้านความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการมาตรฐานเสมอ รวมถึงการสวมชุดป้องกันสารเคมีและอุปกรณ์ป้องกันดวงตาที่เหมาะสมในขณะที่จัดการกับน้ำยา
- หลีกเลี่ยงอย่าให้ผิวหนังสัมผัสกับ Neogen สารละลายสำหรับใช้หยุด ดูเอกสารข้อมูลความปลอดภัยสำหรับข้อมูลด้านความปลอดภัยเพิ่มเติม

คำแนะนำเพื่อลดความเสี่ยงเกี่ยวกับผลการวิเคราะห์แบบลบปลอมที่นำไปสู่การปล่อยผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อนออกไป:

- จัดเก็บ Neogen ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากมอลลัซค์ตามที่ระบุไว้ในบรรจุภัณฑ์และในคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์
- ใช้ Neogen ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากมอลลัซค์สำหรับอาหารและตัวอย่างในสิ่งแวดล้อมที่ผ่านการตรวจสอบจากหน่วยงานภายในหรือภายนอกแล้ว
- ปฏิบัติตามระเบียบการและดำเนินการทดสอบดังที่ระบุไว้อย่างชัดเจนในคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์
- Neogen ยังไม่ได้จัดทำเอกสารเกี่ยวกับการใช้ Neogen ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากมอลลัซค์ในอุตสาหกรรมอื่น ๆ นอกจากอุตสาหกรรมอาหารหรือเครื่องดื่ม ตัวอย่างเช่น Neogen ยังไม่ได้ออกเอกสารเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์นี้สำหรับการทดสอบตัวอย่างยา ตัวอย่างเครื่องสำอาง ตัวอย่างทางคลินิก หรือตัวอย่างเกี่ยวกับสัตว์

คำแนะนำเพื่อลดความเสี่ยงเกี่ยวกับผลที่ไม่ถูกต้องแม่นยำที่นำไปสู่การปล่อยผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อนออกไป:

- ใช้ Neogen ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากมอลลัซค์ก่อนวันหมดอายุเสมอ
- จัดเตรียมสารละลายสำหรับใช้งานโดยใช้น้ำยาเข้มข้นของ Neogen ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากมอลลัซค์ที่อุณหภูมิ 20-25°C เสมอ
- ห้ามแช่แข็ง Neogen น้ำยามาตรฐานโปรตีนของมอลลัซค์
- ห้ามใช้งาน หากสารละลายตั้งต้นโครโมเจนิกเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน ปฏิบัติตามแนวทางในการปฏิบัติที่ดีของห้องปฏิบัติการ[1] เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้ามของ Neogen สารละลายตั้งต้นโครโมเจนิก
- Neogen® Allergen Protein Testing Kits ไม่สามารถใช้ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่โครงสร้างของโปรตีนถูกทำลายด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolyzed protein).
- Neogen ชุดทดสอบโปรตีนแบบรวดเร็ว ถูกออกแบบมาเพื่อทดสอบโปรตีนจากอาหารแปรรูปที่ละลายใน Neogen บัฟเฟอร์การสกัด วิธีการบางอย่างในการแปรรูปอาหารอาจทำให้มีข้อจำกัดในการทดสอบโปรตีนเป้าหมาย.
- กระบวนการแปรรูปอาหารบางอย่าง อาจส่งผลต่อการทดสอบโปรตีนในอาหารโดยใช้ Neogen ชุดทดสอบโปรตีนแบบรวดเร็ว ผู้ใช้งานควรตรวจสอบว่าวิธีทดสอบดังกล่าวนี้เหมาะสมกับวัตถุประสงค์เพื่อให้ตรงกับความต้องการของผู้ใช้งาน.

ข้อสังเกต

เพื่อลดความเสี่ยงจากผลการทดสอบที่ไม่ถูกต้อง ควรปฏิบัติดังนี้

- ความเสถียรของตัวอย่างหลังจากการสกัดยังไม่ได้ประเมิน ควรทำขั้นตอน ELISA ทันทีหลังจากการสกัดตัวอย่าง
- จัดการ Neogen สารมาตรฐานโปรตีนของมอลลัซค์ตามแนวทางในการปฏิบัติที่ดีของห้องปฏิบัติการ[1] เพื่อป้องกันการปนเปื้อนข้ามของตัวอย่าง

ศึกษาเอกสารข้อมูลด้านความปลอดภัยของวัสดุหากต้องการทราบข้อมูลเพิ่มเติม

หากต้องการข้อมูลเกี่ยวกับเอกสารประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ โปรดเข้าไปที่เว็บไซต์ของเราที่ www.neogen.com หรือติดต่อตัวแทนบริษัท Neogen หรือตัวแทนจำหน่ายในท้องถิ่น

ความรับผิดชอบของผู้ใช้

ผู้ใช้จะต้องทำความเข้าใจในคู่มือการใช้งานผลิตภัณฑ์และข้อมูลเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ หากต้องการข้อมูลเพิ่มเติม สามารถเยี่ยมชมเว็บไซต์ของเราได้ที่**www.neogen.com**, หรือติดต่อตัวแทนหรือผู้จัดจำหน่าย Neogen ในพื้นที่ของท่าน

โดยใช้วิธีการทดสอบทั้งหมดในการวิเคราะห์อาหาร เมตริกซ์การทดสอบจะส่งผลต่อผลการทดสอบด้วย การเลือกวิธีทดสอบจะต้องศึกษาถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่อาจส่งผลต่อผลการทดสอบ เช่น วิธีการสุ่มตัวอย่าง วิธีการทดสอบ วิธีการเตรียมตัวอย่าง การจัดการควบคุม และเทคนิคของห้องปฏิบัติการที่อาจกระทบต่อผลการทดสอบได้ ตัวอาหารเองก็อาจจะส่งผลต่อผลการทดสอบเช่นกัน

ผู้ใช้มีหน้าที่เลือกวิธีการทดสอบหรือผลิตภัณฑ์ใด ๆ มาประเมินจำนวนตัวอย่างที่เหมาะสมที่จะทำให้วิธีการทดสอบที่เลือกไว้ตรงตามเกณฑ์ของผู้ใช้

นอกจากนี้ ผู้ใช้จะต้องรับผิดชอบในการเลือกวิธีการทดสอบและผลลัพธ์ที่ได้ให้เป็นไปตามข้อกำหนดของลูกค้าและของผู้จัดส่งสินค้า

เช่นเดียวกับวิธีการทดสอบอื่น ๆ ผลลัพธ์ที่ได้จากการใช้ผลิตภัณฑ์ของ Neogen Food Safety ใดก็ตาม ไม่ได้รับประกันถึงคุณภาพของเมตริกซ์หรือขั้นตอนที่ใช้ทดสอบ

ข้อจำกัดของการรับประกัน/การชดเชยแบบจำกัด

เว้นแต่จะระบุอย่างชัดแจ้งในข้อจำกัดการรับผิดเกี่ยวกับบรรจุภัณฑ์ของสินค้าแต่ละประเภท นีโอเจนขอสงวนสิทธิ์ในการรับประกันใดๆ ไม่ว่าโดยชัดแจ้งหรือโดยปริยาย ซึ่งรวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียง การรับประกันใดๆ ในความสามารถในการค้าขายได้ (Merchantability) หรือ การใช้สอยสินค้าให้สมประโยชน์ตามความมุ่งหมายเฉพาะ (Fitness) หากสินค้าใดๆ ของนีโอเจน มีข้อบกพร่องในความปลอดภัยเกี่ยวกับอาหาร นีโอเจนหรือตัวแทนจัดจำหน่ายที่ได้รับอนุญาตจากนีโอเจนจะเลือกว่าจะเปลี่ยนสินค้าทดแทนหรือคืนเงินค่าสินค้า ซึ่งเป็นการเยียวยาเฉพาะตัวแก่ลูกค้าหากมีคำถามเพิ่มเติม กรุณาติดต่อตัวแทนของนีโอเจนหรือตัวแทนจัดจำหน่ายที่ได้รับอนุญาตจากนีโอเจน

ข้อจำกัดความรับผิดชอบของ Neogen

NEOGEN จะไม่รับผิดชอบต่อการสูญเสียหรือความเสียหายใด ๆ ทั้งโดยตรง โดยอ้อม ความเสียหายจำเพาะที่เกิดขึ้นเนื่องจากการผิดสัญญา หรือที่เป็นผลสืบเนื่อง รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการสูญเสียผลกำไร ความรับผิดชอบของทาง Neogen ในทางกฎหมายจะต้องไม่เกินราคาของผลิตภัณฑ์ที่เสียหายหรือบกพร่องไม่ว่ากรณีใด ๆ ก็ตาม

การเก็บรักษาและการกำจัด

จัดเก็บสิ่งบรรจุใน Neogen ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากมอลลัซค์ที่อุณหภูมิ 2-8°C ห้ามแช่แข็ง จัดเก็บสารละลายสำหรับใช้งานที่เจือจางแล้วตามที่อธิบายในตารางที่ 1

ต้องไม่ใช้ส่วนประกอบ Neogen ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากมอลลัซค์หลังจากวันที่หมดอายุ วันหมดอายุและหมายเลขล็อตจะแสดงไว้บนฉลากด้านนอกของกล่อง

กำจัดทิ้งตามระเบียบและมาตรฐานอุตสาหกรรม/ท้องถิ่น/ภูมิภาค/ประเทศในปัจจุบัน

คำแนะนำการใช้งาน

ปฏิบัติตามคำแนะนำทั้งหมดอย่างละเอียดรอบคอบ หากไม่ปฏิบัติเช่นนั้น อาจให้ผลที่ไม่ถูกต้องแม่นยำได้

การเตรียมน้ำยา

นำน้ำยาทั้งหมดออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (20-25°C) ก่อนใช้งาน ใช้ภาชนะสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการที่สะอาดสำหรับเจือจางและจัดเก็บสารละลายสำหรับใช้งาน

ก. Neogen บัฟเฟอร์การสกัด

ในการเตรียมบัฟเฟอร์การสกัด 1X ให้เติม Neogen บัฟเฟอร์การสกัด (4X) หนึ่งส่วน และเจือจางในน้ำกลั่นหรือน้ำที่ขจัดไอออนสามส่วน อุ่นบัฟเฟอร์การสกัด (1X) ล่วงหน้าจนถึงอุณหภูมิ 50-60°C ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิหรือตู้บ่มเพาะเชื้อแบบเขย่าก่อนใช้งาน ตัวอย่างแต่ละอันต้องใช้บัฟเฟอร์การสกัด 1X ขนาด 4.5 มล.

ข. Neogen สารละลายทำให้เจือจาง

ในการเตรียมสารละลายทำให้เจือจาง 1X ให้เติม Neogen สารทำให้เจือจาง (5X) หนึ่งส่วน ลงในน้ำกลั่นหรือน้ำที่ขจัดไอออนสี่ส่วน ตัวอย่างแต่ละอันต้องใช้สารละลายทำให้เจือจาง 1X ขนาด 4.5 มล. ทั้งหมด

ค. Neogen สารละลายสำหรับใช้ล้าง

ในการเตรียมสารละลายสำหรับใช้ล้าง 1X ให้เติม Neogen สารละลายสำหรับใช้ล้าง (20X) หนึ่งส่วน ลงในน้ำกลั่นหรือน้ำที่ขจัดไอออน 19 ส่วน หลุม Neogen ELISA แต่ละหลุมต้องใช้สารละลายสำหรับใช้ล้าง 1X ขนาด 2.5 มล. โดยประมาณ

หมายเหตุ: อาจมีการเกิดผลึกใน Neogen สารละลายสำหรับใช้ล้าง (20X) เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C ในการละลายผลึก ให้อุ่น Neogen สารละลายสำหรับใช้ล้าง (20X) จนถึงอุณหภูมิ 30-35°C ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิหรือตู้บ่มเพาะเชื้อก่อนการเตรียมสารละลายสำหรับใช้ล้าง (1X)

ง. Neogen คอนจูเกต HRP ของมอลลัซค์

ในการเตรียมคอนจูเกต HRP ของมอลลัซค์ 1X ให้เติม Neogen คอนจูเกต HRP ของมอลลัซค์ (10X) หนึ่งส่วน และเจือจางในสารละลายทำให้เจือจาง **1X ในปริมาณ 9 ส่วน** เตรียมทันทีก่อนใช้งาน หลุม Neogen ELISA แต่ละหลุมต้องใช้คอนจูเกต HRP ของมอลลัซค์ 1X ขนาด 100 ไมโครลิตร

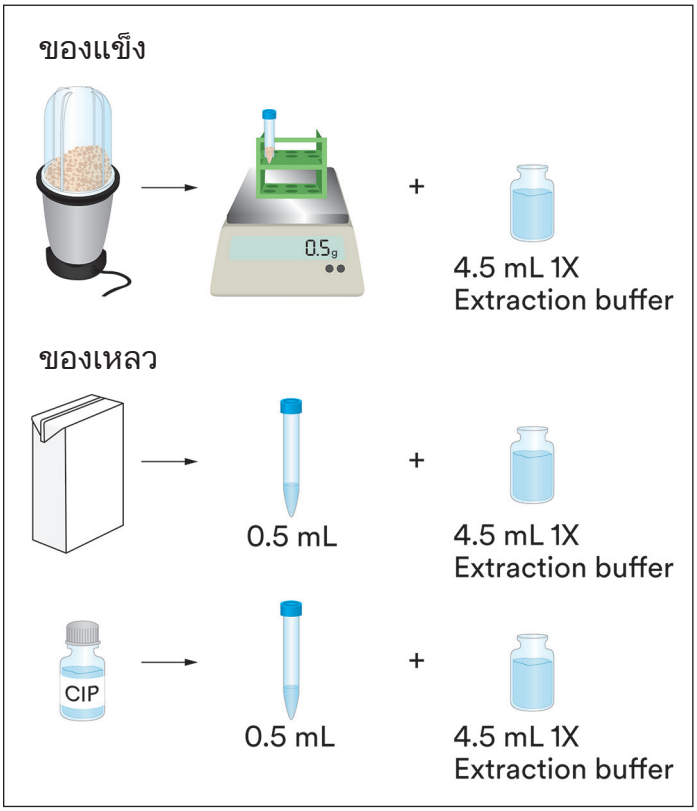
การเตรียมตัวอย่าง

หมายเหตุ: ตัวอย่างทั้งหมดต้องสกัดด้วยบัฟเฟอร์การสกัด 1X ที่อุ่นล่วงหน้าแล้วจนถึงอุณหภูมิ 50-60°C

1.1 เตรียมตัวอย่างสำหรับการสกัดโปรตีนในหลอดทดลองที่สะอาดหรือหลอดทดลองแบบใช้แล้วทิ้งตามที่อธิบายไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การเตรียมตัวอย่าง

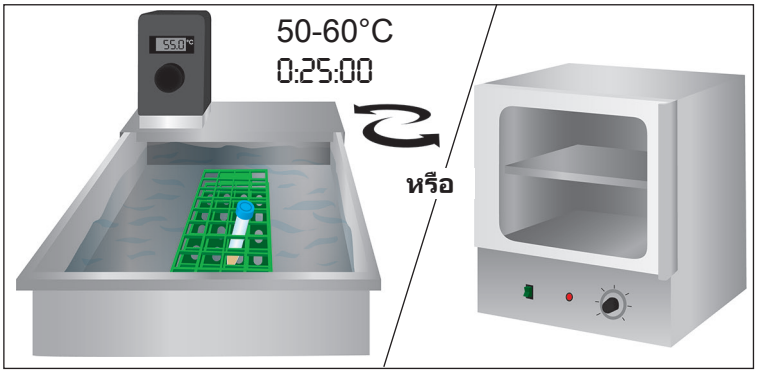
เมตริกซ์ตัวอย่าง	ขนาดตัวอย่าง	การเจือจาง (1/10)
อาหารแข็ง	0.5 ± 0.02 ก.	เติมบัฟเฟอร์การสกัด 1X ที่อุ่นล่วงหน้าแล้ว ขนาด 4.5 ± 0.09 มล.
อาหารเหลว	0.5 ± 0.01 มล.	เติมบัฟเฟอร์การสกัด 1X ที่อุ่นล่วงหน้าแล้ว ขนาด 4.5 ± 0.09 มล.
น้ำล้างสุดท้ายของการทำความสะอาดแบบไม่ถอดชิ้นส่วน (CIP)	0.5 ± 0.01 มล.	เติมบัฟเฟอร์การสกัด 1X ที่อุ่นล่วงหน้าแล้ว ขนาด 4.5 ± 0.09 มล.

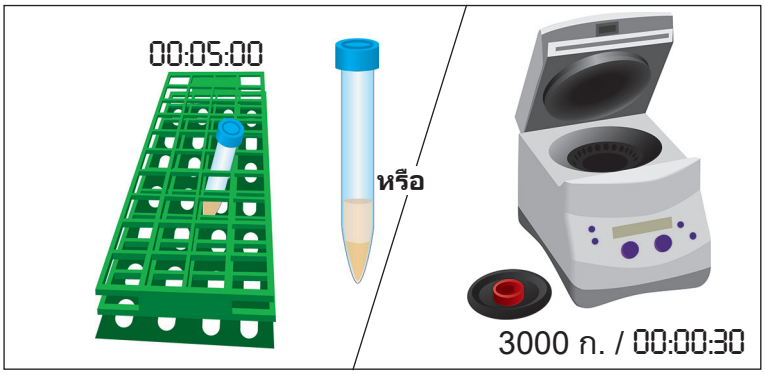


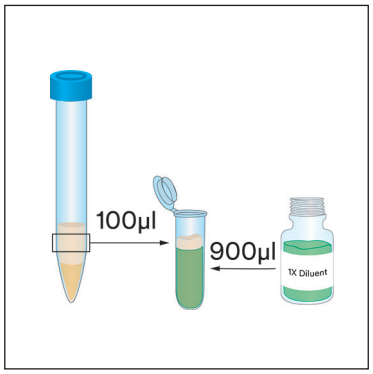
1.2 บ่มเพาะเชื้อตัวอย่างที่เจือจางแล้วในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าหรือตู้บ่มเพาะเชื้อแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 50-60°C เป็นเวลา 25 ± 1 นาที อีกทางเลือกคือปล่อยตัวอย่างไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิหรือตู้บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 50-60°C และเขย่าด้วยมือเป็นเวลา 1 นาที ทุก ๆ 5 นาที

1.3 หลังจากการบ่มเพาะเชื้อแล้ว หมุนเหวี่ยงตัวอย่างที่ 5000-7000 รอบต่อนาที (3000 x *ก.*) เป็นเวลา 20 ถึง 30 วินาที เพื่อให้อนุภาคจับเป็นก้อนหรือปล่อยให้ตกตะกอนเป็นเวลา 5 นาทีในตะแกรงใส่หลอดทดลอง

1.4 เก็บ 100 ไมโครลิตรจากระดับกลาง (ประกอบด้วยน้ำ) แล้วเติมลงในสารละลายทำให้เจือจาง (1X) ขนาด 900 ไมโครลิตร หมุนวนหรือเขย่าเพื่อผสมให้เข้ากัน (ซึ่งจะเท่ากับการเจือจาง 1/100 ของตัวอย่างเดิม)







ขั้นตอน ELISA

2.1 นำหลุม Neogen ELISA ออกหนึ่งหลุมต่อตัวอย่างและ/หรือสารมาตรฐาน แล้ววางหลุมไว้ในที่วางหลุม นำหลุม Neogen ELISA ที่ไม่ได้ใช้เก็บคืนไว้ในถุงฟอยล์ ซีลซ้ำแล้วนำกลับไปเก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C

2.2 ในการใช้ Neogen® น้ำยามาตรฐานโปรตีนของมอลลัซค์ ให้เตรียมสารมาตรฐานสี่หน่วยที่เจือจางแล้วในสารละลายทำให้เจือจาง (1X) หนึ่งชุด

หมายเลขมาตรฐาน	ความเข้มข้นมาตรฐาน (นาโนกรัม/มล.)	ปริมาตรของสารมาตรฐานที่เติมลงในสารทำให้เจือจาง 1X	ปริมาตรของสารละลายทำให้เจือจาง 1X
4	270	Neogen น้ำยามาตรฐานโปรตีนของม อลลัซค์ 10 ไมโครลิตร	990 ไมโครลิตร
3	90	สารมาตรฐานหมายเลข 4 ขนาด 200 ไมโครลิตร	400 ไมโครลิตร
2	30	สารมาตรฐานหมายเลข 3 ขนาด 200 ไมโครลิตร	400 ไมโครลิตร
1	10	สารมาตรฐานหมายเลข 2 ขนาด 200 ไมโครลิตร	400 ไมโครลิตร
0	0	0	400 ไมโครลิตร

2.3 ปีเปตสารมาตรฐานแต่ละชนิด 100 ไมโครลิตรลงในหลุม Neogen ELISA

- สารมาตรฐาน 0 (สารละลายทำให้เจือจาง 1X)
- สารมาตรฐาน 1 (10 นาโนกรัม/มล.) ส่วนต่อพันล้านส่วน
- สารมาตรฐาน 2 (30 นาโนกรัม/มล.) ส่วนต่อพันล้านส่วน
- สารมาตรฐาน 3 (90 นาโนกรัม/มล.) ส่วนต่อพันล้านส่วน
- สารมาตรฐาน 4 (270 นาโนกรัม/มล.) ส่วนต่อพันล้านส่วน

2.4 ปีเปตตัวอย่างที่สกัดและเตรียมไว้ในข้อ 1.4 100 ไมโครลิตรลงในหลุม Neogen ELISA

2.5 บ่มเพราะเชื้อหลุม Neogen ELISA ในเครื่องเขย่าสารแนวราบที่ตั้งค่าที่ 400 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (20-25°C) เป็นเวลา 30 ± 2 นาที ครอบหลุมไว้และรักษาระดับให้อยู่ในระนาบเดียวกันในระหว่างขั้นตอนนี้เพื่อป้องกันการระเหย

2.6 หลังจากการบ่มเพาะเชื้อ ดูดสารของหลุม Neogen ELISA

2.7 เติมหลุม Neogen ELISA แต่ละหลุมให้เต็มด้วยสารละลายสำหรับใช้ล้าง 1X และดูดออก หากทำการล้างด้วยมือ ให้กลับด้านเพลทแล้วเท/เขย่าสารทิ้งลงในถังขยะ และเคาะหลุมอย่างรวดเร็วบนกระดาษซับเพื่อขจัดสารละลายสำหรับใช้ล้างที่ตกค้าง ทำซ้ำขั้นตอนนี้สามครั้งเพื่อล้างทั้งหมดสี่ครั้ง

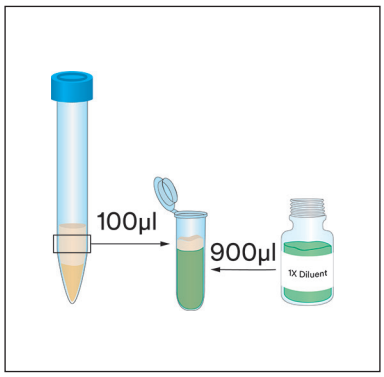
2.8 ปีเปตคอนจูเกต HRP ของมอลลัซค์ 1X ขนาด 100 ไมโครลิตรลงในหลุม Neogen ELISA แต่ละหลุม บ่มเพาะเชื้อในเครื่องเขย่าสารแนวราบที่ตั้งค่าที่ 400 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 ± 2 นาที ครอบหลุมไว้ในที่มืดและรักษาให้อยู่ในระดับเดียวกันระหว่างขั้นตอนนี้

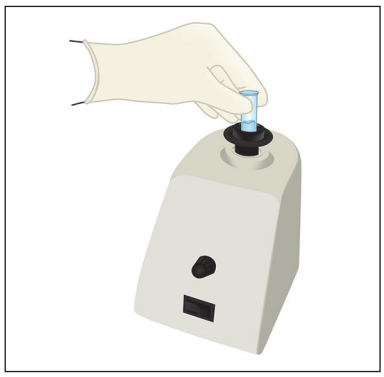
2.9 ทำซ้ำขั้นตอนที่ 2.6 และ 2.7 เพื่อให้ล้างครบทั้งหมดสี่ครั้งด้วยสารละลายสำหรับใช้ล้าง (1X)

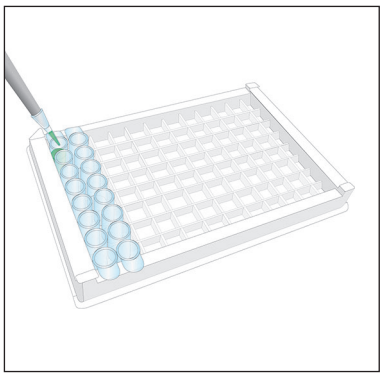
2.10 ปีเปต Neogen สารละลายตั้งต้นโครโมเจนิก (TMB) ขนาด 100 ไมโครลิตรลงในหลุม Neogen ELISA แต่ละหลุม

2.11 บ่มเพาะเชื้อในเครื่องเขย่าสารแนวราบที่ตั้งค่าที่ 400 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที ครอบหลุมไว้ในที่มืดและรักษาให้อยู่ในระดับเดียวกันระหว่างขั้นตอนนี้

2.12 หลังจากการบ่มเพาะเชื้อ ให้เติม Neogen สารละลายสำหรับใช้หยุด ขนาด 100 ไมโครลิตรลงในหลุม Neogen ELISA แต่ละหลุม แล้วพิจารณาการดูดกลืน (ที่ 450 นาโนเมตร) ภายใน 30 นาที

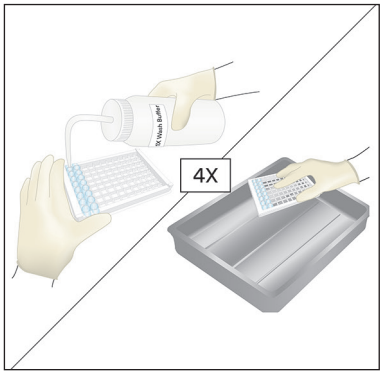


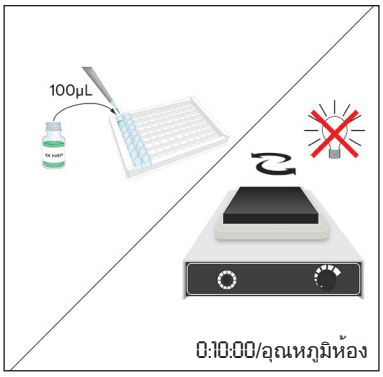




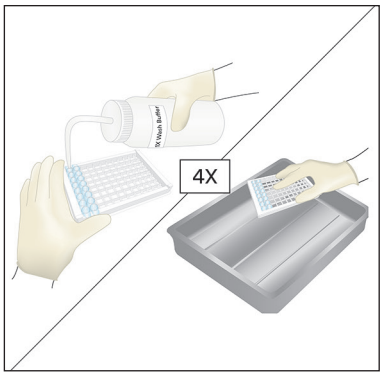


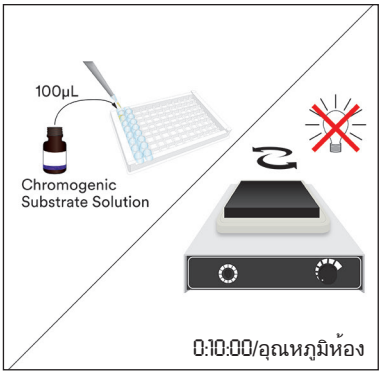


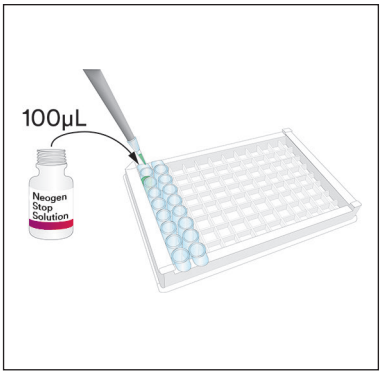


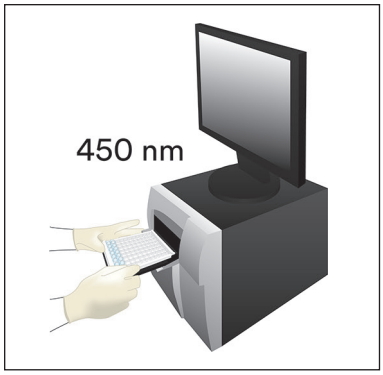












การวิเคราะห์ผล

3.1 หักค่าพื้นหลังเฉลี่ยของตัวอย่างแต่ละตัวอย่าง (ค่าที่อ่านได้ของการดูดกลืนเฉลี่ยของตัวอย่างลบค่าที่อ่านได้ของการดูดกลืนเฉลี่ยของค่าศูนย์มาตรฐาน)

3.2 ใช้ซอฟต์แวร์คอมพิวเตอร์ที่สามารถสร้างส่วนปรับเส้นโค้งโลจิสติกส์แบบสี่พารามิเตอร์ สร้างเส้นโค้งมาตรฐานโดยการพล็อตความเข้มข้นเป็นนาโนกรัม/มิลลิลิตร (ส่วนต่อพันล้านส่วน) บนแกน X และค่าการดูดกลืนที่อ่านได้ตามสารมาตรฐานที่สอดคล้องกันแต่ละตัวบนแกน Y นอกจากนี้ อาจใช้ส่วนปรับเส้นโค้งพหุนามอันดับสอง (สมการกำลังสอง) หรือเส้นโค้งอื่น ๆ ได้ อย่างไรก็ตามส่วนปรับเส้นโค้งเหล่านั้นอาจให้ข้อมูลที่แม่นยำน้อยกว่า

3.3 คำนวณความเข้มข้นของตัวอย่างจากเส้นโค้งมาตรฐาน หน่วยของผลลัพธ์คือนาโนกรัม/มล. (ส่วนต่อพันล้านส่วน) จากนั้น คูณด้วยตัวหารของการเจือจางตัวอย่างเพื่อทราบความเข้มข้นของตัวอย่างเดิม ตัวอย่างเช่น หากการเจือจางทั้งหมดของตัวอย่างคือ 1/100 และความเข้มข้นของตัวอย่างของเส้นโค้งมาตรฐานเท่ากับ 200 นาโนกรัม/มล. (ส่วนต่อพันล้านส่วน) ความเข้มข้นของตัวอย่างสุดท้ายจะเท่ากับ 200 นาโนกรัม/มล. x 100 = 20,000 นาโนกรัม/มล. (ส่วนต่อพันล้านส่วน) ซึ่งเท่ากับ 20 ไมโครกรัม/มล. (ส่วนต่อล้านส่วน)

คุณลักษณะขั้นต่ำ

ก. ปริมาณต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (LOD) เท่ากับ 7.2 นาโนกรัม/มล. (ส่วนต่อพันล้านส่วน)

ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจพบกำหนดเป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารก่อภูมิแพ้ในตัวอย่างที่ทดสอบที่สามารถจำแนกจากตัวอย่างที่ไม่มีสารสกัด ณ ระดับความเป็นไปได้ที่กำหนด [3] ซึ่งกำหนดโดยการเพิ่มค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสามค่าลงในค่าความขุ่นกลางของค่าซ้ำศูนย์มาตรฐานสี่สิบแปดค่า และการคำนวณความเข้มข้นที่เกี่ยวข้อง

ข. ปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานค่าเป็นตัวเลข (LOQ) เท่ากับ 1 ส่วนต่อล้านส่วน

ปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานค่าเป็นตัวเลขกำหนดเป็นระดับต่ำสุดของสารก่อภูมิแพ้ในตัวอย่างที่ทดสอบที่สามารถรายงานเป็นตัวเลข ณ ระดับความแม่นยำที่กำหนด[3]

ความแม่นยำ

ความแม่นยำภายในสารที่ใช้วิเคราะห์	ค่าเฉลี่ย %CV = <10	N=12
ความแม่นยำระหว่างสารที่ใช้วิเคราะห์	ค่าเฉลี่ย %CV = <10	N=12

ข้อมูลอ้างอิง

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.

2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.

3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

คำอธิบายสัญลักษณ์

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

NEOGEN

제품 설명서

연체동물류 단백질 ELISA 키트

연체동물류 단백질 정성 분석을 위한 효소 결합 면역 흡착 측정(ELISA)

제품 설명 및 용도

Neogen® 연체동물류 단백질 ELISA 키트는 제자리 세정(CIP) 최종 헹굼물, 주변물 면봉 시료, 식품 성분 및 가공 식품에서 연체동물류 단백질을 검출하기 위해 고안되었습니다.

Neogen 연체동물류 단백질 ELISA 키트는 샌드위치 ELISA를 활용합니다. 시료에 있는 연체동물류 단백질이 폴리스티렌 미량 정량 시료판의 표면에 흡착된 항연체동물류 항체와 반응합니다. 세척을 통해 비결합 단백질을 제거하면 겨자무과산화효소(HRP)와 결합된 항연체동물류 항체가 추가됩니다. 이러한 효소 표지 항체는 이전에 결합된 연체동물류 단백질과 함께 복합체를 형성합니다. 두 번째 세척 단계 후, 발색 기질인 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB)을 넣으면 면역 흡착제에 결합된 효소가 검출됩니다. 이 효소 반응으로 인한 발색은 시험을 거친 시료의 연체동물류 단백질 농도에 따라 직접적으로 달라집니다. 따라서 450nm라는 흡수율은 시험 시료의 연체동물류 단백질 농도를 측정한 값입니다. 시험 시료에 포함된 연체동물류 단백질의 양은 표준 곡선을 바탕으로 추정하고, 알려진 농도의 표준으로 구성하고, 시료 희석을 고려하도록 조정할 수 있습니다.

Neogen 연체동물류 단백질 ELISA 키트는 실험실 기법에 대해 교육을 받은 전문가가 실험실 환경에서 사용하도록 고안되었습니다. Neogen은 식품이나 음료가 아닌 다른 산업에서의 이 제품 사용을 문서화하지 않았습니다. 즉 Neogen은 약품, 화장품, 임상 또는 수의학 시료 시험에 대해서는 이 제품을 문서화하지 않았습니다. Neogen 연체동물류 단백질 ELISA 키트는 가능성 있는 모든 식료품, 식품 가공 및 시험 프로토콜에서 평가를 거친 것이 아닙니다.

Neogen 연체동물류 단백질 ELISA 키트에는 96가지 시료판이 포함되어 있습니다(표 1에 설명되어 있음).

표 1. 키트 구성요소

항목	ID	준비 (자세한 내용은 시약 준비 섹션 참조)	보관	안정성
Neogen® 연체동물류 단백질 ELISA 시료판	제거 가능한 96가지 항체로 코팅된 시료판이 담긴 호일 백 1개	사용할 준비를 합니다.	건조제와 함께 밀봉한 호일 백에 넣어 2~8°C에서 보관합니다.	사용하지 않은 시료판과 건조제가 담긴 호일 백을 다시 밀봉합니다. 키트의 유통 기한까지 안정성을 유지하기 위해 2~8°C에서 보관합니다.
Neogen® 연체동물류 HRP 결합액(10X)	1.5mL의 10X 겨자무과산화효소(HRP) 결합 항체(10X)가 들어 있는 바이알 1개	사용 직전에 1/10로 희석해 1X의 작업 용액을 만듭니다.	2~8°C의 어두운 곳에 보관합니다.	10X 결합액은 키트의 유효 기간까지 안정적입니다.
Neogen® 연체동물류 단백질 표준 농축액	알려진 연체동물류 단백질 농도의 바이알 1개	표준 준비에 대해서는 ELISA 절차 섹션을 참조하십시오.	2~8°C. 동결시키지 마십시오.	Neogen 연체동물류 단백질 표준 농축액은 키트의 유효 기간까지 안정적입니다.
Neogen® 희석액(5X)	50mL의 5X 희석액이 담긴 병 1개	사용 직전에 1/5로 희석해 1X의 작업 용액을 만듭니다.	2~8°C	5X Neogen 희석 용액은 키트의 유효 기간까지 안정적입니다.

Neogen® 세척액(20X) 	50mL의 20X 세척액이 담긴 병 1개	1/20로 희석해 1X의 작업 용액을 만듭니다.	1X 작업 용액 및 20X 농축 세척액 모두 2~8°C에서 보관합니다.	20X Neogen 세척액은 키트의 유효 기간까지 안정적입니다. 1X 세척액은 준비 후 최소 1주간 안정적입니다.
Neogen® 추출 버퍼 E26(4X) 	120mL의 4X 추출 버퍼가 담긴 병 1개	1/4로 희석해 1X의 작업 용액을 만듭니다. 작업 용액은 사용 전에 50~60°C로 가열해야 합니다.	1X 작업 용액 및 4X Neogen 농축 추출 버퍼 모두 2~8°C에서 보관합니다.	1X 추출 버퍼 및 4X Neogen 추출 버퍼는 키트의 유효 기간까지 안정적입니다.
Neogen® 발색 기질 용액 	12mL의 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB)이 담긴 병 1개	사용할 준비를 합니다.	2~8°C의 어두운 곳에 보관합니다.	빛에 노출되지 않도록 보호합니다. Neogen 발색 기질 용액은 키트의 유효 기간까지 안정적입니다.
Neogen® 정지액 	12mL의 0.Neogen 황산이 담긴 병 1개	사용할 준비를 합니다.	2~8°C	Neogen 정지액은 키트의 유효 기간까지 안정적입니다.

키트에 포함되지 않은 자재:

- 10~100µL를 채취할 수 있는 정밀한 피펫 및 피펫 팁
- 시험 튜브
- 미량 정량 플레이트 세척기/흡인기
- 증류수 또는 탈 이온수
- 미량 정량 플레이트 리더
- 시약 및 버퍼 용액 준비를 위해 갖춰 놓은 여러 가지 실험 기구
- 타이머
- 와류
- 진동 수도 또는 진동 인큐베이터
- 궤도 혼합기

안전

사용자는 Neogen 연체동물류 단백질 ELISA 키트 사용 설명서에 있는 모든 안전 관련 사항을 읽고, 숙지하며, 이에 따라야 합니다. 나중에 참조할 수 있도록 안전 지침을 보관하십시오.

⚠ **경고:** 피하지 못할 경우 사망이나 심각한 부상 및/또는 재산상의 손해를 초래할 수 있는 위험 상황을 의미합니다.

알림: 피하지 못할 경우 재산상의 피해를 초래할 수 있는 잠재적으로 위험한 상황을 의미합니다.

⚠ 경고

화학 물질 노출 관련 위험을 줄이려면:

- 현재의 현지/지역/국가/산업 표준 및 규정에 따라 폐기하십시오.
- 사용자는 해당 담당자에게 우수 실험실 관리 기준[1] 또는 ISO/IEC 17025[2] 등의 적절한 최신 시험 기법을 교육해야 합니다.
- 시약을 다룰 때는 적절한 보호복과 보안경 착용을 비롯하여 항상 표준 실험실 안전 방침을 준수하십시오.
- Neogen 정지액이 피부에 닿지 않도록 하십시오. 자세한 안전 정보는 물질안전보건자료를 참조하십시오.

오염된 제품의 방출로 이어지는 위음성 결과와 관련된 위험을 줄이려면:

- Neogen 연체동물류 단백질 ELISA 키트를 보관할 때는 포장 및 제품 설명서에 명시된 바를 따릅니다.
- Neogen 연체동물류 단백질 ELISA 키트를 내부 또는 제3자의 확인을 거친 식품 및 주변물 시료에 사용하십시오.
- 프로토콜을 준수하고 제품 설명서에 명시된 대로 정확하게 시험을 수행하십시오.
- Neogen은 식품이나 음료 외 산업에 대해서는 Neogen 연체동물류 단백질 ELISA 키트 사용을 문서화하지 않았습니다. 즉 Neogen은 약품, 화장품, 임상 또는 수의학 시료 시험에 대해서는 이 제품을 문서화하지 않았습니다.

오염된 제품의 방출로 이어지는 부정확한 결과가 발생할 위험을 줄이려면:

- Neogen 연체동물류 단백질 ELISA 키트는 언제나 유효 기간 내에 사용하십시오.
- Neogen 연체동물류 단백질 ELISA 키트 농축액 시약은 항상 20~25°C 온도에서 사용하여 작업 용액을 준비하십시오.
- Neogen 연체동물류 단백질 표준 농축액을 동결시키지 마십시오.
- 발색 기질 용액이 파란색으로 변했다면 사용하지 마십시오. Neogen 발색 기질 용액의 교차 오염을 방지하기 위해 우수 실험실 관리 기준[1]을 준수하십시오.
- Neogen® 알러젠 단백질 검사 키트는 가수분해된 단백질의 검출을 위해 만들어지지 않았습니다.
- Neogen 알러젠 단백질 검사 키트는 가공식품으로부터 Neogen 추출용 버퍼로 용해된 단백질을 검출할 수 있도록 설계되었습니다. 일부 식품 가공 방법은 표적 단백질의 검출을 제한할 수 있습니다.
- 일부 식품 가공은 Neogen 알러젠 단백질 검사 키트의 식품 단백질 검출에 영향을 미칠 수 있습니다. 사용자는 해당 검사 방법이 사용자의 요구 사항을 충족시키기 위한 목적에 적합한지 검증해야 합니다.

참고

부정확한 결과가 발생할 위험을 줄이려면:

- 추출 후 시료 안정성에 대해서는 평가를 거친 적이 없습니다. 시료 추출 직후에 ELISA 절차를 수행해야 합니다.
- 시료의 교차 오염을 방지하기 위해 우수 실험실 관리 기준[1]에 따라 Neogen 연체동물류 단백질 표준을 취급하십시오.

자세한 정보는 물질안전보건자료를 참고하십시오.

제품 성능 관련 문서에 관해서는 당사 웹사이트(www.neogen.com)를 확인하거나 현지 Neogen 대리점 또는 판매점에 문의하십시오.

사용자 책임

사용자는 제품 설명서와 정보를 숙지할 책임이 있습니다. 더 자세한 정보는 당사의 웹사이트 **www.neogen.com**를 참고하거나 현지 Neogen 대리점 또는 판매점에 문의하십시오.

식품 분석에 사용된 모든 테스트 방법과 마찬가지로 테스트 매트릭스가 결과에 영향을 줄 수 있습니다. 시험 방법을 선택할 때, 시료 추출 방법, 시험 프로토콜, 시료 준비, 취급, 실험실 기법과 같은 외적 요인들이 결과에 영향을 미칠 수 있음을 인식하는 것이 중요합니다. 식품 샘플 자체가 결과에 영향을 줄 수 있습니다.

사용자가 선택한 테스트 방법이 사용자의 기준을 충족하도록 만족시키기 위해 테스트 방법 또는 제품을 선택하여 충분한 샘플 수를 평가하는 것은 사용자의 책임입니다.

또한 사용자에게는 여느 테스트 방법 및 결과가 해당 고객 및 공급자의 요구 사항을 충족하는지 판단할 책임이 있습니다.

여느 테스트 방법과 마찬가지로 Neogen Food Safety 제품을 사용하여 얻은 결과가 테스트된 매트릭스나 프로세스의 품질을 보장하는 것은 아닙니다.

보증의 한계/제한적 구제

개별 제품 포장의 제한적 보증 부분에 명시된 경우를 제외하고, NEOGEN은 상품성 또는 특정 용도 적합성에 대한 보증을 포함한 어떤 명시적이거나 암묵적인 보증도 거부합니다. Neogen Food Safety 제품에 결함이 있을 경우, Neogen이나 그의 공식 판매업체는 자체 판단에 따라 제품을 교체하거나 구매 금액을 환불해 드립니다. 이는 귀하의 배타적 구제책입니다. 추가 질문이 있으면 Neogen 담당자 또는 Neogen 공인 대리점에 문의하십시오.

Neogen 책임의 한계

NEOGEN은 수익의 상실을 포함하여 어떤 직접적인, 간접적인, 특별한, 부수적인, 결과적인 손해나 손실에 대해서도 책임지지 않습니다. 법 이론에 따른 Neogen의 책임은 어떤 경우에도 결함이 있다고 주장된 제품의 구매 대금을 초과하지 않습니다.

보관 및 폐기

Neogen 연체동물류 단백질 ELISA 키트 내용물은 2~8°C에서 보관하십시오. 동결시키지 마십시오. 희석한 작업 용액은 표 1에 설명된 바와 같이 보관합니다.

유통 기한이 지난 Neogen 연체동물류 단백질 ELISA 키트 구성요소는 사용해서는 안 됩니다. 유통 기한과 품목 번호는 상자의 외부 라벨에 기입되어 있습니다.

현재의 현지/지역/국가/산업 표준 및 규정에 따라 폐기하십시오.

사용 지침

모든 지침을 주의 깊게 준수하십시오. 그렇지 않으면 부정확한 결과가 나올 수 있습니다.

시약 준비

모든 시약은 사용 전에 실온(20~25°C)에 두십시오. 깨끗한 실험 기구를 이용해 작업 용액을 희석 및 보관합니다.

a. Neogen 추출 버퍼

1X 추출 버퍼를 준비하려면 Neogen 추출 버퍼(4X) 1성분을 탈이온수 또는 증류수 3성분에 넣어 희석합니다. 사용 전에 따뜻한 수조에서 추출 버퍼(1X)를 50~60°C로 미리 데우거나 인큐베이터를 흔듭니다. 각 시료에는 4.5mL의 1X 추출 버퍼가 필요합니다.

b. Neogen 희석 용액

1X 희석 용액을 준비하려면 Neogen 희석제(5X) 1성분을 탈이온수 또는 증류수 4성분에 넣습니다. 각 시료에는 총 4.5mL의 1X 희석 용액이 필요합니다.

c. Neogen 세척액

1X 세척액을 준비하려면 Neogen 세척액(20X) 1성분을 탈이온수 또는 증류수 19성분에 넣습니다. 각 Neogen ELISA 시료판에는 약 2.5mL의 1X 세척액이 필요합니다.

참고: 2~8°C에서 보관할 경우 Neogen 세척액(20X)에 결정이 형성될 수 있습니다. 결정을 용해하려면 세척액(1X)을 준비하기 전에 수조 또는 인큐베이터에서 Neogen 세척액(20X)의 온도를 30~35°C로 높입니다.

d. Neogen 연체동물류 HRP 결합액

1X 연체동물류 HRP 결합액을 준비하려면 Neogen 연체동물류 HRP 결합액(10X) 1성분을 **1X 희석 용액** 9성분에 넣어 희석합니다. 사용 직전에 준비하십시오. 각 Neogen ELISA 시료판에는 100µL의 1X 연체동물류 HRP 결합액이 필요합니다.

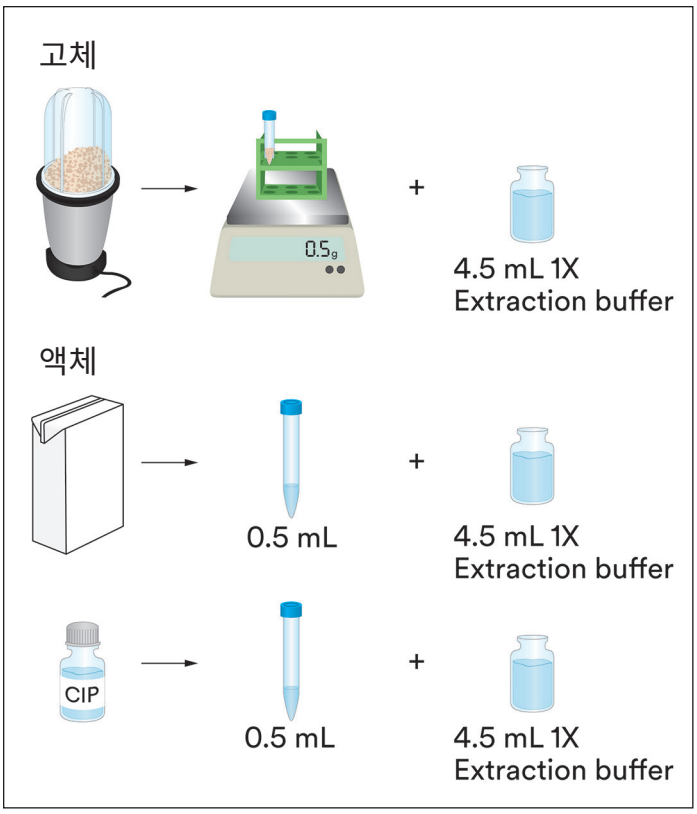
시료 준비

참고: 모든 시료는 사전에 50~60°C로 데운 1X 추출 버퍼로 추출되어야 합니다.

1.1 단백질 추출을 위해 표 2에 설명된 바와 같이 깨끗한 시험용 튜브나 일회용 튜브에 시료를 준비합니다.

표 2. 시료 준비

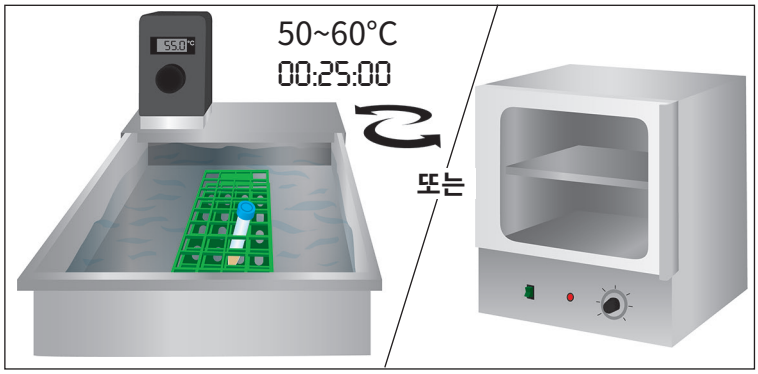
시료 매트릭스	시료 크기	희석(1/10)
고체 식품	0.5 ± 0.02g	사전에 데워 둔 1X 추출 버퍼 4.5 ± 0.09mL 넣기
액체 식품	0.5 ± 0.01mL	사전에 데워 둔 1X 추출 버퍼 4.5 ± 0.09mL 넣기
제자리 세척(CIP) 최종 헹굼물	0.5 ± 0.01mL	사전에 데워 둔 1X 추출 버퍼 4.5 ± 0.09mL 넣기

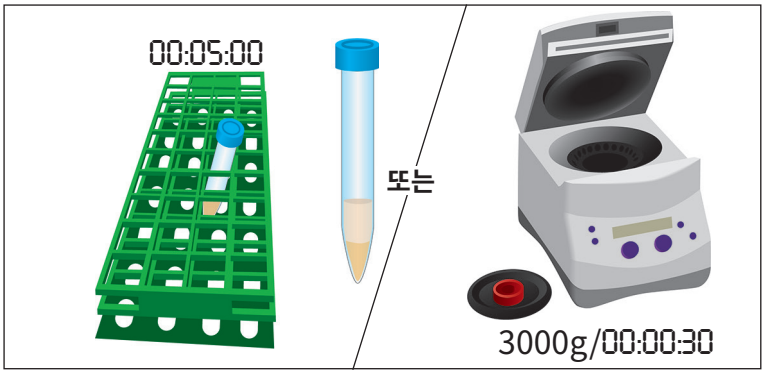


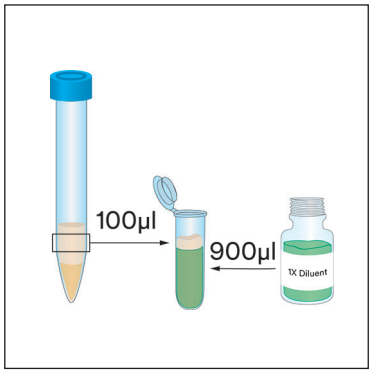
1.2 50~60°C에서 25 ± 1분 동안 흔들리는 수조 또는 흔들리는 인큐베이터에서 희석한 시료를 배양합니다. 다른 방법으로는 시료를 50~60°C의 수조 또는 인큐베이터에 넣고 5분마다 1분씩 수동으로 흔드는 것이 있습니다.

1.3 배양 후, 5,000~7,000rpm(3,000 x *g*)에서 20~30초 동안 시료를 원심분리해 입자를 작게 분해하거나 시험 튜브 랙에서 5분 동안 침전시킵니다.

1.4 가운데(수성) 층에서 100µL를 수집해 900µL의 희석 용액(1X)에 넣습니다. 잘 혼합되도록 휘젓거나 흔듭니다(원래 시료의 1/100 희석분에 해당함).







ELISA 절차

2.1 시료 및/또는 표준당 1개의 Neogen ELISA 시료판을 제거하고 해당 시료판을 시료판 홀더에 놓습니다. 사용하지 않은 Neogen ELISA 시료판을 호일 파우치에 다시 넣고 재밀봉한 후 다시 2~8°C에서 보관합니다.

2.2 Neogen 연체동물류 단백질 표준 농축액을 활용해 희석 용액(1X)에 희석된 4개의 표준 세트를 준비합니다.

표준 번호	표준 농도 (ng/mL)	1X 희석액에 추가된 표준의 용적	1X 희석 용액의 용적
4	270	10µL의 Neogen 연체동물류 단백질 표준 농축액	990µL
3	90	200µL의 표준 번호 4	400µL
2	30	200µL의 표준 번호 3	400µL
1	10	200µL의 표준 번호 2	400µL
0	0	0	400µL

2.3 피펫으로 100µL의 각 표준을 Neogen ELISA 시료판으로 옮깁니다.

- 표준 0(1X 희석 용액)
- 표준 1(10ng/mL)ppb
- 표준 2(30ng/mL)ppb
- 표준 3(90ng/mL)ppb
- 표준 4(270ng/mL)ppb

2.4 1.4에서 준비한 추출된 시료 100µL를 피펫으로 Neogen ELISA 시료판으로 옮깁니다.

2.5 실온(20~25°C)에서 30 ± 2분 동안 400rpm으로 설정한 궤도 혼합기에서 Neogen ELISA 시료판을 배양합니다. 이 단계 중에 증발되는 것을 방지하기 위해 시료판을 덮어두고 높이를 유지하십시오.

2.6 배양 후에 Neogen ELISA 시료판의 내용물을 흡인합니다.

2.7 각 Neogen ELISA 시료판을 1X 세척액으로 완전히 채운 후 흡인합니다. 세척이 수동으로 수행되었다면 플레이트를 뒤집어 내용물을 폐기물 용기에 붓거나 흔들어 털어내고 흡수지를 놓고 시료판을 강하게 쳐서 남은 세척액을 없애십시오. 총 4번의 세척을 위해 이 단계를 3회 반복하십시오.

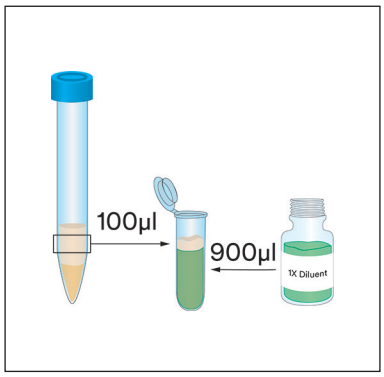
2.8 피펫으로 100µL의 1X 연체동물류 HRP 결합액을 각 Neogen ELISA 시료판으로 옮깁니다. 실온에서 10 ± 2분 동안 400rpm으로 설정한 궤도 혼합기에서 배양합니다. 이 단계 중에는 플레이트를 덮어 어둡게 하고 높이를 유지하십시오.

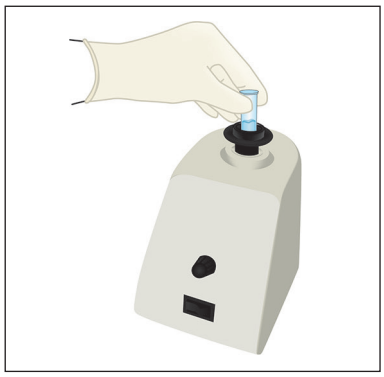
2.9 세척액(1X)으로 총 4번의 세척을 완료하기 위해 2.6단계와 2.7단계를 반복합니다.

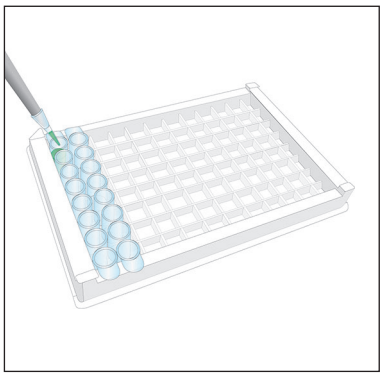
2.10 피펫으로 100µL의 Neogen 발색 기질 용액(TMB)을 각 Neogen ELISA 시료판으로 옮깁니다.

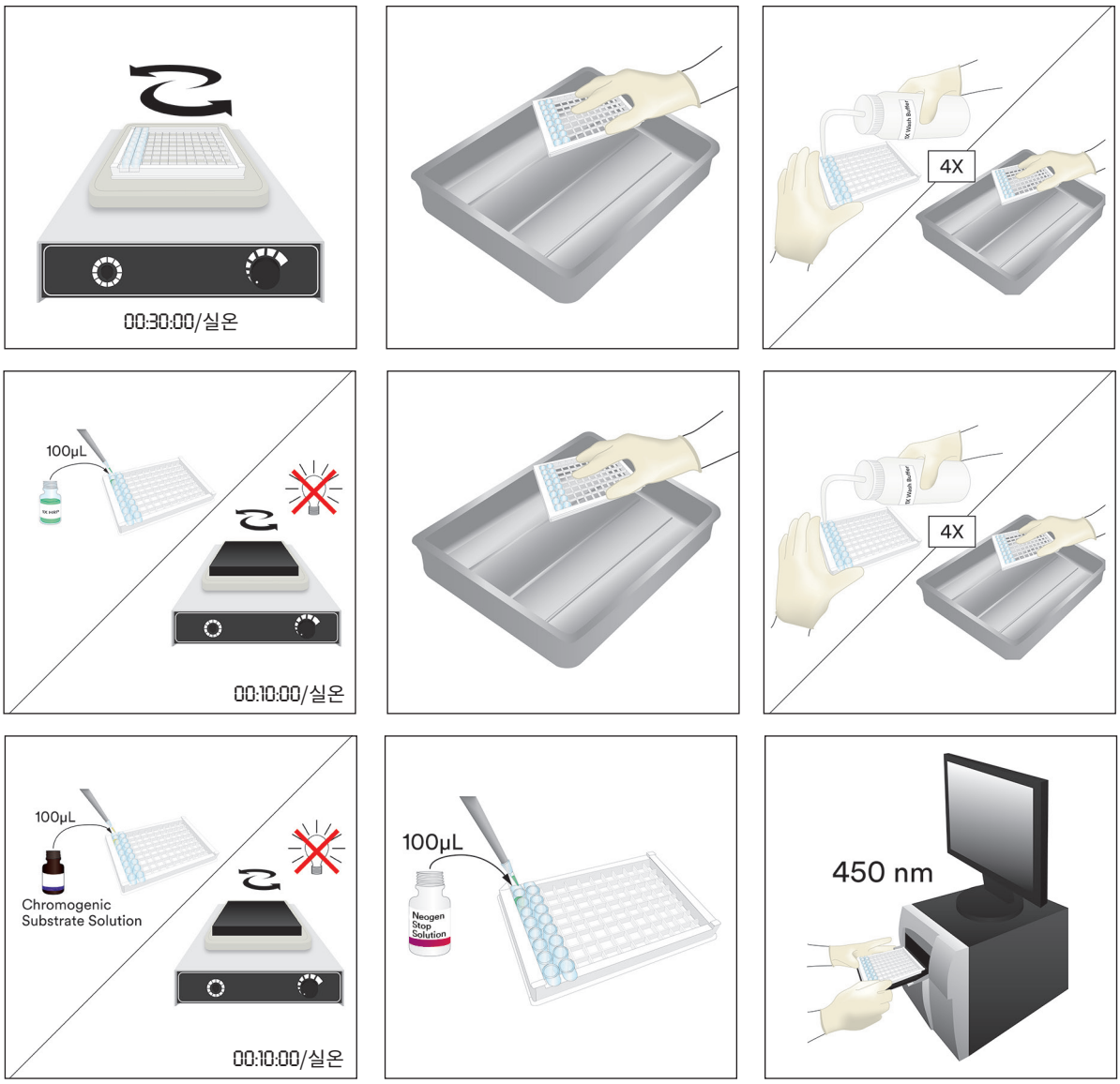
2.11 실온에서 10분 동안 400rpm으로 설정한 궤도 혼합기에서 배양합니다. 이 단계 중에는 플레이트를 덮어 어둡게 하고 높이를 유지하십시오.

2.12 배양 후, 100µL의 Neogen 정지액을 각 Neogen ELISA 시료판에 넣고 30분 이내에 흡수율(450nm)을 확인합니다.









결과 분석

3.1 각 시료의 평균 배경 값을 뺍니다(시료의 평균 흡수율 판독 값 - 표준 제로의 평균 흡수율 판독 값).

3.2 4개의 매개변수 로지스틱스 곡선 적합도를 생성할 수 있는 컴퓨터 소프트웨어를 사용해 ng/mL(ppb) 단위로 농도는 x축에, 해당하는 표준별 흡수율 판독 값은 y축에 표시하여 표준 곡선을 구성합니다. 2차 다항식(2) 또는 기타 커브 적합도도 사용할 수 있지만 데이터 적합도만큼 정밀하지는 않습니다.

3.3 표준 곡선에서 시료 농도를 계산하십시오. 결과 단위는 ng/mL(ppb)입니다. 그런 다음 시료 희석 지수를 곱해 원래 시료의 농도를 구합니다. 예를 들어, 시료의 총 희석도가 1/100이고 표준 곡선의 시료 농도가 200ng/mL(ppb)라면, 최종 시료 농도는 200ng/mL x 100 = 20,000ng/mL(ppb)이며, 이것은 20µg/mL(ppm)입니다.

최소 성능 특성

a. 분석 검출 한계(LOD)는 7.2ng/mL(ppb)입니다.

검출 한계는 지정된 확률 수준에서 실제 바탕 시료와 구분될 수 있는 시험 시료의 알레르겐 최저 농도로 정의됩니다[3]. 이는 48개의 표준 제로 복제물의 평균 광학 밀도 값에 세 개의 표준 편차를 추가하고 상응하는 농도를 계산하여 결정합니다.

b. 정량 한계(LOQ)는 1ppm입니다.

정량 한계는 지정된 정밀도 수준에서 합리적으로 정량할 수 있는 시험 시료의 알레르겐 최저 수준으로 정의됩니다[3].

정밀도

키트 내 정밀도	평균 %CV = 10 미만	N=12
키트 간 정밀도	평균 %CV = 10 미만	N=12

참고 자료

1. 미국 식품의약국. 미 연방 규정, 타이틀 21, 파트 58. 비임상 실험 연구에 대한 우수 실험실 관리 기준.
2. ISO/IEC 17025. 시험 및 검정 실험실 역량에 대한 일반 요구 사항.
3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E. 및 Delahaut, P.(2010). 부록 M: 정량적 식품 알레르겐 ELISA 방법의 검증 절차: 커뮤니티 지침 및 모범 사례. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

기호 설명

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

NEOGEN®

Petunjuk Produk

ELISA Kit Protein Moluska

Penetapan Kadar Imunosorben Taut-enzim (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)) untuk analisis kuantitatif protein moluska.

Deskripsi Produk dan Maksud Penggunaan

ELISA Kit Protein Moluska Neogen® dimaksudkan untuk mendeteksi protein moluska pada air bilasan akhir (clean-in-place water (CIP)), sampel swab lingkungan, bahan makanan, dan produk makanan olahan.

ELISA Kit Protein Moluska Neogen menggunakan sandwich ELISA. Protein moluska dalam sampel bereaksi dengan antibodi anti-moluska, yang telah diserap ke permukaan sumur mikrotiter polistiren. Setelah protein tak terikat diangkat dengan pencucian, ditambahkan konjugat antibodi anti-moluska dengan horseradish peroksidase (horseradish peroxidase (HRP)). Antibodi berlabel enzim ini membentuk kompleks dengan protein moluska yang terikat sebelumnya. Setelah tahap pencucian kedua, enzim terikat pada imunosorben dideteksi dengan penambahan substrat kromogenik, 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidin (TMB). Perkembangan warna reaksi enzimatik ini bervariasi secara langsung dengan konsentrasi protein moluska dalam sampel yang diuji; dengan demikian, absorbansi, pada 450 nm, adalah ukuran konsentrasi protein moluska pada sampel uji. Jumlah protein moluska pada sampel uji dapat diekstrapolasi dari kurva standar (dibangun dari standar konsentrasi yang diketahui) dan disesuaikan untuk tindakan pengenceran sampel.

ELISA Kit Protein Moluska Neogen dimaksudkan untuk pemakaian di lingkungan laboratorium oleh para profesional yang terlatih dalam teknik laboratorium. Neogen tidak mendokumentasikan penggunaan produk ini dalam industri selain makanan atau minuman. Sebagai contoh, Neogen belum mendokumentasikan produk ini untuk pengujian sampel farmasi, kosmetik, klinis, atau veterinari. ELISA Kit Protein Moluska Neogen belum dievaluasi pada seluruh kemungkinan produk makanan, proses makanan, dan protokol pengujian.

ELISA Kit Protein Moluska Neogen berisi 96 sumur, yang dijelaskan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komponen Kit

Alat	Identifikasi	Persiapan (lihat detailnya pada bagian Persiapan Reagen)	Penyimpanan	Stabilitas
Sumur ELISA Protein Moluska Neogen®	Satu kantong foil dengan plat berisi 96 sumur berlapis antibodi yang dapat dilepas.	Siap pakai.	2-8 °C dalam kantong foil yang disegel berisi desikan.	Kantong foil disegel ulang berisi sumur dan desikan yang belum dipakai. Simpan pada suhu 2-8 °C untuk menjaga stabilitas sampai tanggal kedaluwarsa kit.
Konjugat HRP Moluska Neogen® (10X)	Satu vial berisi 1,5 ml Antibodi Konjugat 10X Horseradish Peroxidase (HRP) (10X).	Encerkan 1/10 segera sebelum digunakan untuk membuat larutan kerja 1X.	2-8 °C dalam gelap.	Konjugat 10X stabil sampai tanggal kedaluwarsa kit.
Konsentrat Standar Protein Moluska Neogen®	Satu vial berisi konsentrasi protein moluska yang diketahui.	Mengacu pada persiapan standar di Bagian Prosedur ELISA.	2-8 °C. Jangan dibekukan.	Konsentrat Standar Protein Moluska Neogen stabil sampai tanggal kedaluwarsa kit.

Pengencer (5X) Neogen®	Satu botol berisi 50 ml Pengencer 5X.	Encerkan 1/5 segera sebelum digunakan untuk membuat larutan kerja 1X.	2-8 °C	Larutan Pengencer Neogen 5X stabil sampai tanggal kedaluwarsa kit.
Larutan Pembersih Neogen® (20X)	Satu botol berisi 50 ml larutan pembersih 20X.	Encerkan 1/20 untuk membuat larutan kerja 1X.	2-8 °C untuk larutan kerja 1X dan konsentrat Larutan Pembersih 20X.	Larutan Pembersih Neogen 20X stabil sampai tanggal kedaluwarsa kit. Larutan Pembersih 1X stabil minimal satu minggu setelah persiapan.
Ekstraksi Buffer E26 Neogen® (4X)	Satu botol berisi 120 ml ekstraksi buffer 4X.	Encerkan 1/4 untuk membuat larutan kerja 1X. Larutan kerja harus dipanaskan sampai 50-60 °C sebelum digunakan.	2-8 °C untuk larutan kerja 1X dan konsentrat Ekstraksi Buffer Neogen 4X.	Ekstraksi Buffer 1X dan Ekstraksi Buffer Neogen 4X stabil sampai tanggal kedaluwarsa kit.
Larutan Substrat Kromogenik Neogen®	Satu botol berisi 12 ml 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidin (TMB).	Siap pakai.	2-8 °C dalam gelap.	Jauhkan dari cahaya. Larutan Substrat Kromogenik Neogen stabil sampai tanggal kedaluwarsa kit.
Larutan Penghenti Neogen®	Satu botol 12 ml asam sulfat 0,3 M.	Siap pakai.	2-8 °C	Larutan Penghenti Neogen stabil sampai tanggal kedaluwarsa kit.

Bahan yang tidak disertakan dalam kit:

- Tip pipet dan pipet presisi untuk mengumpulkan 10-100 µl
- Tabung reaksi
- Pencuci/aspirator pelat mikrotiter
- Air sulingan atau deionisasi
- Pembaca pelat mikrotiter
- Aneka ragam perangkat lab untuk pembuatan reagen dan larutan penyangga
- Penghitung waktu
- Vorteks
- Shaking water bath atau shaking incubator
- Orbital shaker

Keselamatan

Pengguna harus membaca, memahami, dan mengikuti informasi keselamatan dalam petunjuk ELISA Kit Protein Moluska Neogen. Simpanlah petunjuk keselamatan untuk referensi mendatang.

⚠ **PERINGATAN:** Menandakan situasi berbahaya, yang, apabila tidak dihindari, dapat menyebabkan kematian atau cedera serius dan/atau kerusakan harta benda.

PERHATIAN: Menandakan situasi yang berpotensi berbahaya yang, apabila tidak dihindari, dapat menyebabkan kerusakan harta benda.

⚠ PERINGATAN

Untuk mengurangi risiko dalam kaitannya dengan paparan terhadap bahan kimia:

- Buang sesuai standar dan peraturan setempat/regional/nasional/industri yang berlaku.
- Pengguna harus melatih personelnya dalam teknik pengujian yang tepat saat ini; misalnya, Good Laboratory Practices[1] atau ISO/IEC 17025[2].

- Patuhi praktik-praktik keselamatan laboratorium standar, termasuk memakai pakaian pelindung dan pelindung mata yang sesuai saat menangani reagen.
- Hindarkan kulit bersentuhan dengan Larutan Penghenti Neogen. Lihat informasi keselamatan tambahan pada Lembar Data Keselamatan.

Untuk memperkecil risiko yang berkaitan dengan hasil negatif salah yang dapat menyebabkan pelepasan produk yang terkontaminasi:

- Simpan ELISA Kit Protein Moluska Neogen seperti yang ditunjukkan pada kemasan dan dalam petunjuk produk.
- Gunakan ELISA Kit Protein Moluska Neogen untuk sampel makanan dan lingkungan yang telah divalidasi secara internal atau oleh pihak ketiga.
- Patuhi protokol dan lakukan pengujian dengan tepat seperti yang tercantum dalam petunjuk produk.
- Neogen belum mendokumentasikan penggunaan ELISA Kit Protein Moluska Neogen di industri selain makanan atau minuman. Sebagai contoh, Neogen belum mendokumentasikan produk ini untuk pengujian sampel farmasi, kosmetik, klinis, atau veterinari.

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan hasil tak akurat yang dapat menyebabkan pelepasan produk yang terkontaminasi:

- Gunakan ELISA Kit Protein Moluska Neogen sebelum tanggal kedaluwarsanya.
- Selalu siapkan larutan kerja menggunakan reagen terkonsentrasi ELISA Kit Protein Moluska Neogen pada suhu 20-25 °C.
- Jangan bekukan Konsentrat Standar Protein Moluska Neogen.
- Jika Larutan Substrat Kromogenik berubah menjadi biru, jangan gunakan. Ikuti Good Laboratory Practices[1] untuk menghindari kontaminasi silang Larutan Substrat Kromogenik Neogen.
- Neogen® Allergen Protein Testing Kit tidak dimaksudkan untuk mendeteksi protein terhidrolisis.
- Kit Pengujian Neogen Protein Alergen dirancang untuk mendeteksi protein dari makanan olahan setelah dilarutkan ke dalam Neogen Penyangga Ekstraksi. Beberapa metode pemrosesan makanan mungkin membatasi deteksi protein target ini.
- Beberapa pemrosesan makanan dapat mempengaruhi deteksi protein makanan dengan kit uji Neogen Protein Alergen. Pengguna harus memverifikasi bahwa metode tersebut sesuai dengan tujuan untuk memenuhi persyaratan pengguna.

PERHATIAN

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan hasil yang tidak akurat:

- Stabilitas sampel setelah ekstraksi belum dievaluasi. Prosedur ELISA harus dijalankan tepat setelah ekstraksi sampel.
- Tangani Standar Protein Moluska Neogen mengikuti Good Laboratory Practices[1] untuk mencegah kontaminasi silang sampel.

Periksa Lembar Data Keselamatan untuk informasi tambahan.

Untuk informasi mengenai dokumentasi kinerja produk, kunjungi situs web kami di www.neogen.com, atau hubungi perwakilan atau distributor Neogen setempat.

Tanggung Jawab Pengguna

Pengguna bertanggung jawab untuk memahami informasi dan petunjuk produk. Kunjungi situs web kami di **www.neogen.com**, atau hubungi perwakilan atau distributor Neogen setempat untuk informasi selengkapnya.

Seperti halnya semua metode pengujian yang digunakan untuk analisis makanan, matriks pengujian dapat memengaruhi hasil. Saat memilih metode pengujian, penting untuk diketahui bahwa faktor eksternal seperti metode pengambilan sampel, protokol pengujian, preparasi sampel, penanganan, dan teknik laboratorium dapat memengaruhi hasilnya. Sampel makanan itu sendiri mungkin memengaruhi hasil.

Pengguna bertanggung jawab memilih metode pengujian atau produk untuk mengevaluasi jumlah sampel yang memadai agar memuaskan pengguna bahwa metode pengujian yang dipilih tersebut memenuhi kriteria pengguna.

Pengguna juga bertanggung jawab untuk menentukan bahwa semua metode dan hasil pengujian memenuhi persyaratan pelanggan dan pemasok.

Untuk semua metode pengujian, hasil yang diperoleh dari penggunaan produk Neogen Food Safety apa pun bukan merupakan jaminan kualitas terhadap matriks atau proses yang diuji.

Pembatasan Jaminan/Penggantian Terbatas

KECUALI SEBAGAIMANA DITENTUKAN DI BAGIAN GARANSI TERBATAS UNTUK SETIAP KEMASAN PRODUK, NEOGEN TIDAK BERTANGGUNG JAWAB TERHADAP SEMUA GARANSI SECARA TERTULIS MAUPUN SECARA TERSIRAT, TERMASUK NAMUN TIDAK TERBATAS PADA, JAMINAN KELAYAKAN JUAL ATAU KESESUAIAN UNTUK PENGGUNAAN TERTENTU. Apabila ada Produk Neogen Food Safety yang cacat, Neogen atau distributor resminya, sesuai kebijakannya, akan mengganti atau membayar kembali harga pembelian produk. Penggantian ini ditawarkan kepada Anda secara eksklusif. Silakan hubungi perwakilan Neogen Anda atau distributor resmi Neogen untuk pertanyaan lebih lanjut.

Pembatasan Tanggung Jawab Neogen

NEOGEN TIDAK BERTANGGUNG JAWAB ATAS SEGALA BENTUK KEHILANGAN ATAU KERUSAKAN, BAIK KERUSAKAN SECARA LANGSUNG, TIDAK LANGSUNG, KHUSUS, INSIDENTAL MAUPUN KONSEKUENSIAL, TERMASUK NAMUN TIDAK TERBATAS PADA HILANGNYA KEUNTUNGAN. Bagaimanapun juga, sesuai teori hukum mana pun, Neogen tidak bertanggung jawab melebihi dari harga pembelian produk yang dinyatakan sebagai cacat.

Penyimpanan dan Pembuangan

Simpan isi ELISA Kit Protein Moluska Neogen pada suhu 2-8 °C. Jangan dibekukan. Simpan larutan kerja yang diencerkan seperti yang dijelaskan pada Tabel 1.

Komponen ELISA Kit Protein Moluska Neogen tidak boleh digunakan setelah tanggal kedaluwarsa. Tanggal kedaluwarsa dan nomor lot tercantum pada label di bagian luar kotak.

Buang sesuai standar dan peraturan setempat/regional/nasional/industri yang berlaku.

Petunjuk Penggunaan

Patuhi semua petunjuk dengan saksama. Kegagalan dalam mematuhinya dapat menyebabkan hasil tidak akurat.

Persiapan Reagen

Taruh semua reagen pada suhu lingkungan (20-25 °C) sebelum digunakan. Gunakan perangkat lab bersih untuk mengencerkan dan menyimpan larutan kerja.

a. Ekstraksi Buffer Neogen

Untuk menyiapkan Ekstraksi Buffer 1X, tambahkan satu bagian Ekstraksi Buffer Neogen (4X) dan encerkan dalam tiga bagian air deionisasi atau suling. Hangatkan sebelumnya Ekstraksi Buffer (1X) sampai suhu 50-60 °C dalam water bath atau shaking incubator sebelum digunakan. Setiap sampel memerlukan 4,5 ml Ekstraksi Buffer 1X.

b. Larutan Pengencer Neogen

Untuk menyiapkan larutan Pengencer 1X, tambahkan satu bagian Pengencer Neogen (5X) pada empat bagian air deionisasi atau suling. Setiap sampel memerlukan total 4,5 ml larutan Pengencer 1X.

c. Larutan Pembersih Neogen

Untuk menyiapkan Larutan Pembersih 1X, tambahkan satu bagian Larutan Pembersih Neogen (20X) pada 19 bagian air deionisasi atau suling. Setiap Sumur ELISA Neogen memerlukan sekitar 2,5 ml Larutan Pembersih 1X.

Catatan: Pembentukan kristal pada Larutan Pembersih Neogen (20X) dapat terjadi jika disimpan pada suhu 2-8 °C. Untuk melarutkan kristal, hangatkan Larutan Pembersih Neogen (20X) sampai suhu 30-35 °C dalam water bath atau inkubator sebelum menyiapkan Larutan Pembersih (1X).

d. Konjugat HRP Moluska Neogen

Untuk mempersiapkan Konjugat HRP Moluska 1X, tambahkan satu bagian Konjugat HRP Moluska Neogen (10X) dan encerkan dalam 9 bagian **larutan Pengencer 1X.** Persiapkan segera sebelum digunakan. Setiap Sumur ELISA Neogen memerlukan 100 µl Konjugat HRP Moluska 1X.

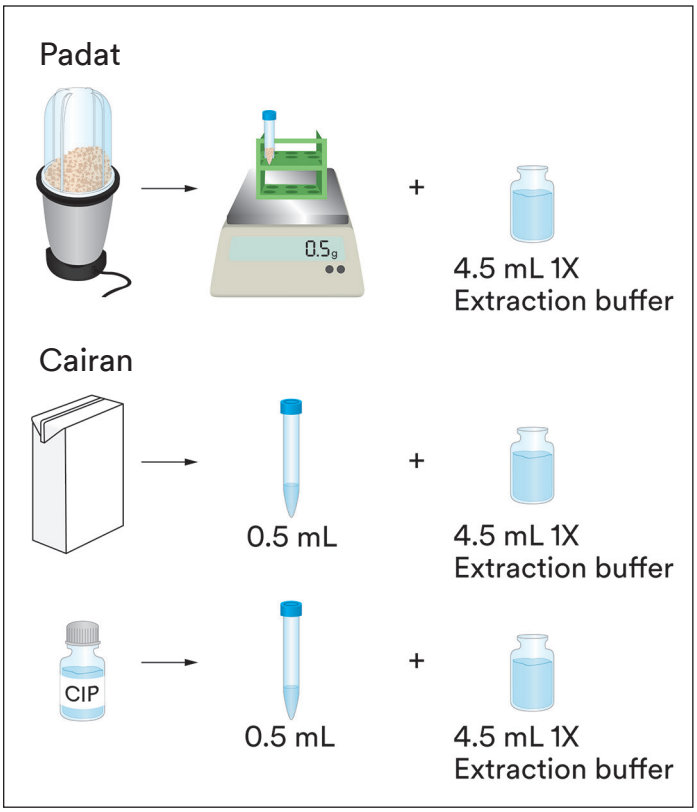
Penyiapan Sampel

Catatan: Seluruh sampel harus diekstraksi dengan Ekstraksi Buffer 1X yang telah dihangatkan sampai suhu 50-60°C.

1.1 Siapkan sampel untuk ekstraksi protein dalam tabung reaksi bersih atau tabung sekali pakai, seperti yang dijelaskan pada Tabel 2.

Tabel 2. Penyiapan sampel

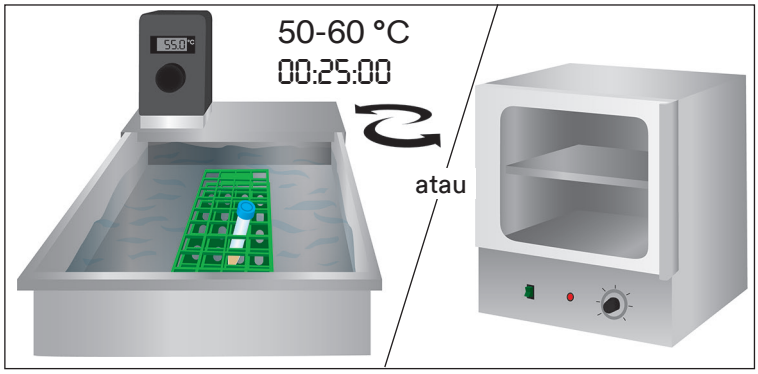
Matriks sampel	Ukuran sampel	Pengenceran (1/10)
Makanan padat	0,5 ± 0,02 gr	Tambahkan 4,5 ± 0,09 ml Ekstraksi Buffer 1X yang telah dihangatkan
Makanan cair	0,5 ± 0,01 ml	Tambahkan 4,5 ± 0,09 ml Ekstraksi Buffer 1X yang telah dihangatkan
Air Bilasan Akhir (Clean-in-Place (CIP))	0,5 ± 0,01 ml	Tambahkan 4,5 ± 0,09 ml Ekstraksi Buffer 1X yang telah dihangatkan

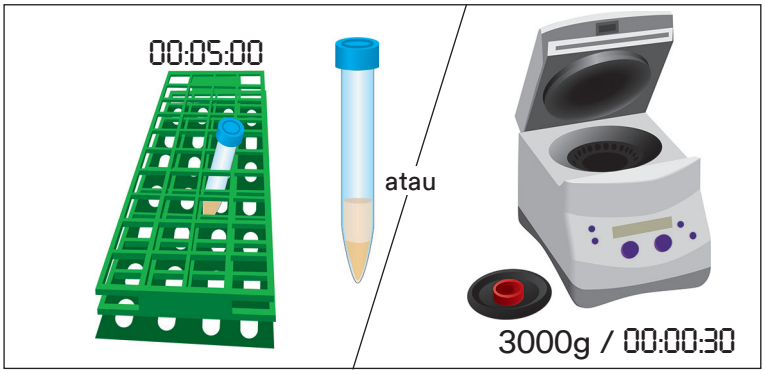


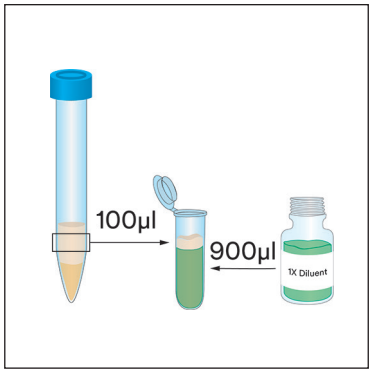
1.2 Inkubasi sampel yang diencerkan dalam shaking water bath atau shaking incubator pada suhu 50-60 °C selama 25 ± 1 menit. Atau, biarkan sampel di water bath atau inkubator pada suhu 50-60 °C dan guncangkan secara manual selama 1 menit setiap 5 menit.

1.3 Setelah inkubasi, sentrifugalkan sampel pada kecepatan 5000-7000 rpm (3000 x *g*) selama 20 sampai 30 detik untuk partikel pelet, atau biarkan mengendap selama 5 menit dalam rak tabung reaksi.

1.4 Kumpulkan 100 µl dari lapisan tengah (berair) dan tambahkan pada 900 µl Larutan Pengencer (1X). Vorteks atau goyangkan untuk mencampur dengan rata. (Sesuai dengan pengenceran sampel asli 1/100.)







Prosedur ELISA

2.1 Pindahkan satu Sumur ELISA Neogen per sampel dan/atau standar dan tempatkan sumur di penahan sumur. Kembalikan Sumur ELISA Neogen yang tidak terpakai ke kantong foil, segel ulang, dan kembalikan ke penyimpanan pada suhu 2-8 °C.

2.2 Menggunakan Konsentrat Standar Protein Moluska Neogen, siapkan set dengan empat standar yang diencerkan dalam Larutan Pengencer (1X).

Nomor Standar	Konsentrasi Standar (ng/ml)	Volume standar ditambahkan pada Pengencer 1X	Volume larutan Pengencer 1X
4	270	10 µl Konsentrat Standar Protein Moluska Neogen	990 µl
3	90	200 µl dari standar nomor 4	400 µl
2	30	200 µl dari standar nomor 3	400 µl
1	10	200 µl dari standar nomor 2	400 µl
0	0	0	400 µl

2.3 Pindahkan dengan pipet 100 µl setiap standar ke dalam Sumur ELISA Neogen.

- Standar 0 (Larutan Pengencer 1X)
- Standar 1 (10 ng/ml) ppb
- Standar 2 (30 ng/ml) ppb
- Standar 3 (90 ng/ml) ppb
- Standar 4 (270 ng/ml) ppb

2.4 Pindahkan dengan pipet 100 µl sampel yang telah diekstraksi yang disiapkan dalam 1.4 ke dalam Sumur ELISA Neogen.

2.5 Inkubasi Sumur ELISA Neogen pada orbital shaker dengan kecepatan 400 rpm pada suhu kamar (20-25 °C) selama 30 ± 2 menit. Jaga agar semua sumur tetap tertutup dan sejajar selama langkah ini untuk mencegah penguapan.

2.6 Setelah inkubasi, sedot isi Sumur ELISA Neogen.

2.7 Isi sepenuhnya masing-masing Sumur ELISA Neogen dengan Larutan Pembersih 1X dan sedot. Jika pencucian dilakukan manual, balikkan pelat dan tuang/guncangkan isinya ke dalam limbah wadah dan pukul-pukul sumur dengan kuat pada kertas absorben untuk menghilangkan residu larutan pembersih. Ulangi langkah ini tiga kali dengan total empat kali mencuci.

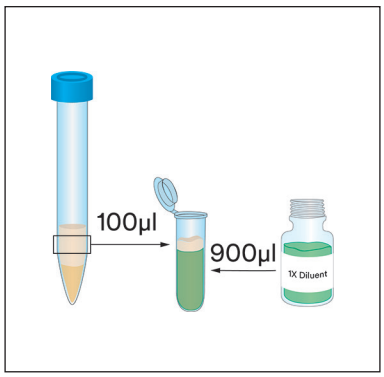
2.8 Pindahkan dengan pipet 100 µl Konjugat HRP Moluska 1X ke masing-masing Sumur ELISA Neogen. Inkubasi pada orbital shaker dengan kecepatan 400 rpm pada suhu kamar selama 10 ± 2 menit. Jaga agar pelat tetap tertutup dalam gelap dan sejajar selama langkah ini.

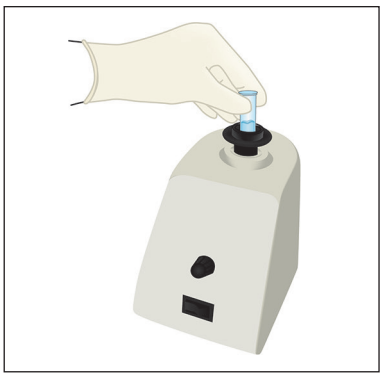
2.9 Ulangi langkah 2.6 dan 2.7 untuk menyelesaikan total empat pencucian dengan Larutan Pembersih (1X).

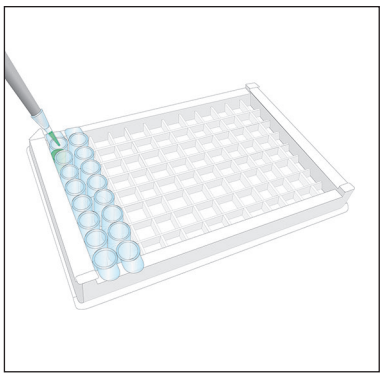
2.10 Pindahkan dengan pipet 100 µl Larutan Substrat Kromogenik Neogen (Chromogenic Substrate Solution (TMB)) ke masing-masing Sumur ELISA Neogen.

2.11 Inkubasi pada orbital shaker dengan kecepatan 400 rpm pada suhu kamar selama 10 menit. Jaga agar pelat tetap tertutup dalam gelap dan sejajar selama langkah ini.

2.12 Setelah inkubasi, tambahkan 100 µl Larutan Penghenti Neogen pada masing-masing Sumur ELISA Neogen dan tentukan absorbansinya (pada 450 nm) dalam waktu 30 menit.

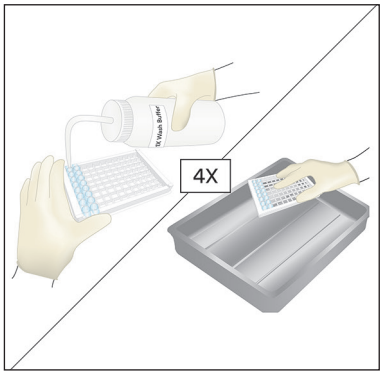


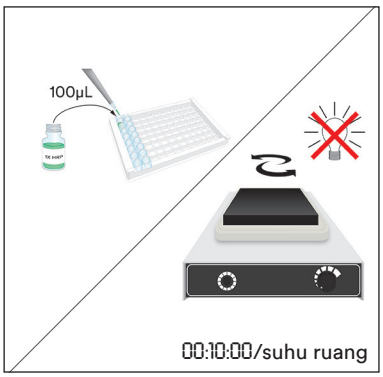


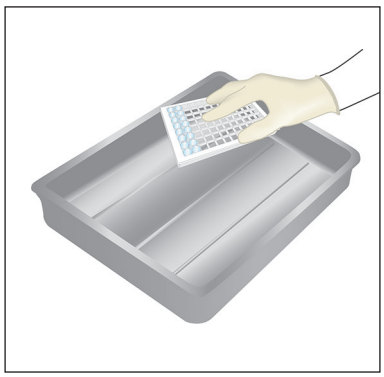


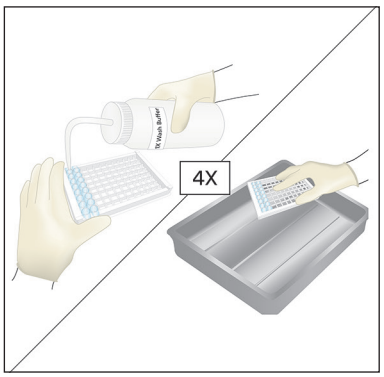


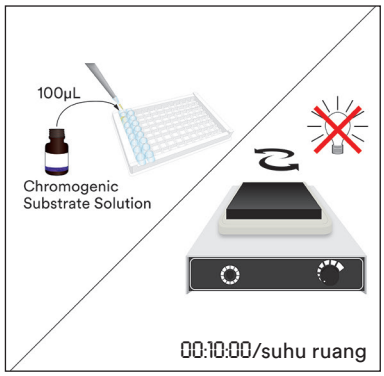




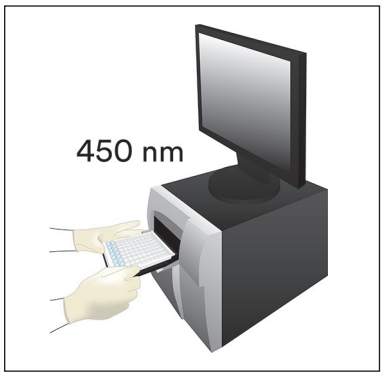












Hasil Analisis

3.1 Kurangi nilai latar rata-rata untuk setiap sampel (Pembacaan rata-rata absorbansi sampel dikurangi pembacaan rata-rata absorbansi nol standar.)

3.2 Menggunakan perangkat lunak komputer yang mampu menghasilkan logistic curve fit empat parameter, ciptakan kurva standar dengan memplot konsentrasi dalam ng/ml (ppb) pada sumbu x dan pembacaan absorbansi untuk masing-masing standar yang sesuai pada sumbu y. Polinomial orde kedua (kuadrat) atau kurva lainnya juga bisa digunakan; namun, data yang dihasilkan kurang tepat.

3.3 Hitung konsentrasi sampel kurva standar; unit yang dihasilkan dalam ng/ml (ppb). Kemudian, kalikan dengan faktor pengenceran sampel untuk mendapatkan konsentrasi sampel asli. Misalnya, jika pengenceran total sampel adalah 1/100, dan konsentrasi sampel kurva standar adalah 200 ng/ml (ppb), konsentrasi sampel akhir adalah 200 ng/ml x 100 = 20.000 ng/ml (ppb) yaitu 20 µg/ml (ppm).

Karakteristik Kinerja Minimal

a. Batas Deteksi (Limit of Detection (LOD)) analitik adalah 7,2 ng/ml (ppb)

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi alergen terendah dalam sampel uji yang bisa dibedakan dari sampel kosong nyata pada tingkat probabilitas tertentu[3]. Hal ini ditentukan dengan menambahkan tiga standar deviasi pada nilai mean densitas optik dari empat puluh delapan replikasi standar nol dan menghitung konsentrasi yang sesuai.

b. Batas Kuantifikasi (Limit of Quantification (LOQ)) adalah 1 ppm

Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai tingkat terendah alergen dalam sampel uji yang bisa dihitung secara wajar pada tingkat presisi tertentu[3].

Presisi

Presisi Intra-assay	Rata-rata %CV = <10	N=12
Presisi Inter-assay	Rata-rata %CV = <10	N=12

Referensi

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

Penjelasan Simbol

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

تاريخ الإصدار: 2024-01

إرشادات المنتج

طقم اليزا بروتين القوقع

الفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) للتحليل الكمّي لبروتينات القوقع.

وصف المُنتج وغرض الاستخدام

®Neogen طقم اليزا بروتين القوقع مُعدٌ للكشف عن بروتينات القوقع في مياه الشطف النهائي الخاصة بالتنظيف في المكان وعينات المسحات البيئية والمكونات الغذائية والمنتجات الغذائية المصنعة.

ويَستخدم Neogen طقم اليزا بروتين القوقع شطيرية اليزا للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم. وتتفاعل بروتينات القوقع الموجودة في العينة مع الأجسام المضادة لمضادات القوقع التي امتُصت على سطح أنابيب المعيار ميكرويتر البوليسترين. وبعد إزالة البروتينات الحرة عن طريق الغسيل، تُضاف الأجسام المضادة لمضادات القوقع المصاحبة لبيروكسيديز الفجل (HRP). وتُشكّل هذه الأجسام المُضادة المرتبطة بالإنزيم مركّبات مع بروتين القوقع المرتبط سابقًا. وبعد خطوة الغسيل الثانية، يُكشف عن الإنزيم المرتبط بالفحص المناعي عن طريق إضافة الطبقة التحتية الصبغية تيتراميثيلبنزيدين, 3,3‘,5,5‘- (TMB). يتنوع تطور اللون من هذا التفاعل الإنزيمي مباشرة مع تركيز بروتين القوقع في العينة المُختبرة؛ وبالتالي، فإن الامتصاصية، عند 450 نانومتر، هي مقياس لتركيز بروتين القوقع في عينة الاختبار. ويمكن استنباط كمية بروتين القوقع في عينة الاختبار من المنحنى القياسي، وتشكيلها من معايير التركيز المعروف، وتعديلها للنظر في تخفيف العينة.

إن Neogen طقم اليزا بروتين القوقع معدٌ للاستخدام في بيئة المختبر على أيدي مهنيين مدرّبين على أساليب العمل في المختبرات. لم توثق شركة Neogen استخدام هذا المنتج في صناعات أخرى بخلاف الأغذية والمشروبات. على سبيل المثال، لم توثق شركة Neogen هذا المنتج لاختبار عينات الأدوية أو مستحضرات التجميل أو العينات السريرية أو البيطرية. ولم يُقيَّم استخدام Neogen طقم اليزا بروتين القوقع مع جميع المنتجات الغذائية المُمكنة وعمليات صناعة الأغذية وبروتوكولات الاختبار.

ويحتوي Neogen طقم اليزا بروتين القوقع على 96 أنبوبًا، موضحة في الجدول 1.

الجدول 1. مكونات الطقم

العنصر	التعريف	الثبات	الإعداد (انظر قسم إعداد الكاشف للحصول على التفاصيل)	التخزين
أنابيب ®Neogen طقم اليزا بروتين القوقع	كيس معدني واحد به لوح يحتوي على 96 أنبوبًا قابل للإزالة ومُغطى بالأجسام المضادة.	أعد غلق الكيس المعدني المُحتوي على أنابيب غير مستخدمة وعامل تجفيف. ويُخزّن في درجة حرارة 2-8°C للحفاظ على الثبات حتى تاريخ انتهاء صلاحية الطقم.	جاهز للاستخدام.	2-8°C داخل كيس معدني مُغلق به عامل مُجفِّف.
®Neogen مترافق القوقع لبيروكسيديز الفجل تركيز (10X)	قارورة واحدة بها 1.5 مليلتر من الأجسام المضادة تركيز (10X) المُصاحبة لبيروكسيداز الفجل (10X).	يظل المترافق 10X ثابتًا حتى تاريخ انتهاء صلاحية الطقم.	يُخفّف بنسبة 1/10 مباشرة قبل استخدامه للحصول على محلول عمل تركيزه 1X.	2-8°C في الظلام.
®Neogen بروتين الكونسينترات القياسي لبروتين القوقع	قارورة واحدة بها تركيز معروف من بروتين القوقع.	يظل Neogen بروتين الكونسينترات القياسي لبروتين القوقع ثابتًا حتى تاريخ انتهاء صلاحية الطقم.	راجع قسم إجراءات الفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) لإعداد قياسي.	2-8°C. لا يجمد.

Neogen® المحلول المخفَّف (5X) 	زجاجة واحدة بها 50 ملليترًا من المحلول المخفَّف تركيزه 5X.	يظل Neogen المحلول المخفَّف المُنظَّم ذو التركيز (5X) ثابتًا حتى تاريخ انتهاء صلاحية الطقم.	يُخفّف بنسبة 1/5 مباشرة قبل استخدامه للحصول على محلول عمل تركيزه 1X.	2-8°C
Neogen® محلول الغسيل بتركيز (20X) 	زجاجة واحدة بها 50 ملليترًا من محلول الغسيل بتركيز 20X.	يظل Neogen محلول الغسيل ذو التركيز (20X) ثابتًا حتى تاريخ انتهاء صلاحية الطقم. يظل محلول الغسيل ذو التركيز 1X ثابتًا لمدة لا تقل عن أسبوع بعد إعداده.	يُخفّف بنسبة 1/20 للحصول على محلول عمل تركيزه 1X.	2-8°C لكلٍ من محلول العمل ذي التركيز 1X ومحلول الغسيل ذي التركيز 20X.
Neogen® عامل الاستخلاص المنظم E26 بتركيز (4X) 	زجاجة واحدة بها 120 ملليترًا من عامل الاستخلاص بتركيز (4X).	يظل عامل الاستخلاص ذو التركيز 1X و Neogen عامل الاستخلاص المنظم ذو التركيز (4X) ثابتين حتى تاريخ انتهاء صلاحية الطقم.	يُخفّف بنسبة 1/4 للحصول على محلول عمل تركيزه 1X. يجب تسخين محلول العمل إلى درجة حرارة 50- 60°C قبل الاستخدام.	2-8°C لكلٍ من محلول العمل ذي التركيز 1X و Neogen عامل الاستخلاص المنظم بتركيز (4X).
Neogen® محلول الطبقة التحتية الصبغية 	زجاجة واحدة بها 12 ملليترًا من محلول الطبقة التحتية الصبغية تيراميثيلبنزيدين 3,3‘,5,5‘- (TMB).	يُحفظ بعيدًا عن الضوء. يظل Neogen محلول الطبقة التحتية الصبغية ثابتًا حتى تاريخ انتهاء صلاحية الطقم.	جاهز للاستخدام.	2-8°C في الظلام.
Neogen® محلول التوقف 	زجاجة واحدة بها 12 ملليترًا من 0.3 م حمض الكبريتيك.	يظل Neogen محلول التوقف ثابتًا حتى تاريخ انتهاء صلاحية الطقم.	جاهز للاستخدام.	2-8°C

مواد غير متوفرة في المجموعة:

- ماصات دقة ورؤوس ماصة لجمع من 10 إلى 100 ميكرولتر
- أنابيب اختبار
- مُنظِّف/شفاط لوح المعيار المِكْرَوي
- ماء مُقطَّر أو منزوع الأيونات
- قارئ لوح المعيار المِكْرَوي
- مجموعة متنوعة من معدات المعمل لتحضير الكواشف ومحاليل العوامل المُنظِّمة
- مؤقِّت
- مُقلِّب
- حمام مائي هزاز أو حضَّان هزاز
- جهاز هزاز دوراني

السلامة

يجب على المُستخدم قراءة وفهم واتِّباع جميع إرشادات السلامة الواردة في تعليمات Neogen طقم اليزا بروتين القوقع. وينبغي الاحتفاظ بإرشادات السلامة للرجوع إليها في المستقبل.

⚠**تحذير:** يشير إلى حالة خطرة قد تؤدي، إن لم يتم تجنبها، إلى الوفاة أو التعرض لإصابات خطيرة و/أو حدوث تلف في الممتلكات.

إنذار: يشير إلى حالة يُحتمل أن تكون خطرة قد تؤدي، إن لم يتم تجنبها، إلى حدوث تلف في الممتلكات.

⚠ تحذير

للحد من المخاطر المتعلقة بالتعرض للكيماويات:

- التخلُّص من المواد الكيميائية وفقًا للمعايير واللوائح المحلية والإقليمية والوطنية والصناعية الحالية.
- ينبغي أن يُدرِّب المُستخدم موظفيه على تقنيات الاختبار الصحيح الحالية، مثل الممارسات المعملية الجيدة[1] أو معايير ISO/IEC 17025[2].
- يجب دائمًا اتباع ممارسات السلامة المعملية القياسية، والتي تتضمن ارتداء الملابس الواقية المناسبة وحماية العين أثناء التعامل مع الكواشف.
- تجنَّب ملامسة الجلد لـ Neogen محلول التوقف، انظر ورقة بيانات السلامة لمعرفة المزيد حول معلومات السلامة.

للحد من المخاطر المرتبطة بالنتائج السلبية الخاطئة التي تؤدي إلى إصدار مُنتج مُلوَّث:

- يجب تخزين Neogen طقم اليزا بروتين القوقع كما هو موضّح على العلبة وفي تعليمات المنتج.
- يجب استخدم Neogen طقم اليزا بروتين القوقع مع العينات الغذائية والبيئية التي تم التحقق من صحتها داخليًا أو بواسطة طرف ثالث.
- اتبع البروتوكول ويجب إجراء الاختبارات بالضبط كما هو موضّح في تعليمات المنتج.
- لم تُسجِّل شركة Neogen استخدام Neogen طقم اليزا بروتين القوقع في صناعات أخرى غير المواد الغذائية أو المشروبات. على سبيل المثال، لم توثق شركة Neogen هذا المنتج لاختبار عينات الأدوية أو مستحضرات التجميل أو العينات السريرية أو البيطرية.

للحد من المخاطر المرتبطة بالنتائج غير الدقيقة التي تؤدي إلى إصدار مُنتج مُلوَّث:

- يجب استخدام Neogen طقم اليزا بروتين القوقع دومًا قبل انتهاء الصلاحية.
- يجب إعداد محاليل العمل دائمًا باستخدام الكواشف المُركَّزة لـ Neogen طقم اليزا بروتين القوقع عند 20-25°C.
- يجب عدم تجميد Neogen بروتين الكونسينترات القياسي لبروتين القوقع.
- ينبغي عدم استخدام محلول الطبقة التحتية الصبغية إذا تحوَّل لونه إلى اللون الأزرق. يجب اتباع الممارسات المعملية الجيدة[1] لتجنُّب التلوث الخلطي من Neogen محلول الطبقة التحتية الصبغية.
- طقم ثري ام لحساسية البروتين لايستخدم لاكتشاف البروتين المتحلل.
- مجموعة Neogen لاختبار البروتينات المسببة للحساسية مصممه للكشف عن البروتينات في الأغذية المصنعة بمجرد ذوبانها في Neogen محلول الاستخلاص. قد تحد بعض طرق معالجة الأغذية من اكتشاف هذه البروتينات المستهدفة.
- قد تؤثر بعض عمليات معالجة الأغذية على اكتشاف البروتينات الغذائية باستخدام مجموعة اختبار البروتينات المسببه للحساسية من Neogen. يجب على المستخدمين التحقق من أن الطريقة مناسبة لغرض تلبية متطلبات المستخدم.

إنذار

للحدّ من الخطر المتعلق بالنتائج غير الدقيقة:

- لم يُقيَّم ثبات العينة بعد عمليات الاستخراج. يجب تنفيذ إجراءات الفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) بعد استخراج العينة مباشرةً.
- يجب الالتزام بمعايير Neogen بروتين القوقع بعد اتباع الممارسات المعملية الجيدة[1] لمنع التلوث الخلطي بين العينات.

راجع ورقة بيانات السلامة للاطلاع على معلومات إضافية.

للحصول على معلومات حول مستندات أداء المنتجات، تفضل بزيارة موقعنا الإلكتروني على العنوان www.neogen.com أو اتصل بممثل أو موزع شركة Neogen المحلي لديك.

مسؤولية المُستخدم

يتحمل المستخدمون مسؤولية الاطلاع بأنفسهم على التعليمات والبيانات الخاصة بالمنتج. يُرجى زيارة موقعنا الإلكتروني على **www.neogen.com**، أو الاتصال بالمُمثل أو المُوزِّع المحلي الخاص بشركة Neogen لديكم للحصول على مزيد من المعلومات.

وكما هو الحال بالنسبة لجميع طُرق الاختبار المُستخدمة لتحليل الأغذية، فقد تؤثر مصفوفة الاختبار على النتائج. عند تحديد طريقة الاختبار، من المهم أن تدرك أن العوامل الخارجية، مثل طرق أخذ العينات وبروتوكولات الاختبار وإعداد العينات ومناولتها وتقنية المختبر قد تؤثر على النتائج. وقد تؤثر العينة الغذائية نفسها على النتائج.

ويتحمل المستخدِم مسؤولية تحديد أي طريقة اختبار أو منتج لتقييم عدد كافٍ من العينات بحيث يشعر المستخدِم بالرضا بشأن أن طريقة الاختبار المختارة تتوافق مع معايير المستخدم.

كما يتحمل المستخدِم أيضًا مسؤولية تحديد ما إذا كانت جميع طرق ونتائج الاختبار تُلبي متطلبات العملاء والموردين.

وكما هو الحال بالنسبة لأي طريقة اختبار، لا تشكِّل النتائج المحصّلة من استخدام أي منتج خاص بسلامة الأغذية لشركة Neogen ضمانًا لجودة المصفوفات أو العمليات المُختبرة.

تقييد الضمانات/التعويضات المحدودة

بخلاف ما هو منصوص عليه صراحةً في قسم الضمان المحدود على عبوة المنتج الفردية، لا تتحمل NEOGEN مسؤولية جميع الضمانات الصريحة أو الضمنية، بما في ذلك على سبيل المثال لا الحصر، أي ضمانات لقابلية البيع أو الملاءمة لغرض معين. إذا اكتشفت أي عيب بأي منتج من منتجات Neogen Food Safety، فإن Neogen أو أحد موزعيها المعتمدين، وحسب اختيارها، ستقوم بإعادة أو رد مبلغ الشراء المدفوع مقابل الحصول على المنتج. هذه هي التعويضات القانونية الحصرية المتاحة لك. يرجى الاتصال بممثل Neogen أو موزع Neogen المعتمد لمزيد من الاستفسارات.

حدود مسؤولية Neogen

لا تتحمل NEOGEN أي مسؤولية عن أي خسارة أو أضرار، سواء أكانت مباشرة أم غير مباشرة أم خاصة أم عرضية أم استتباعية، بما في ذلك على سبيل المثال لا الحصر خسارة الأرباح. لا تتحمل Neogen بأي حال من الأحوال أي التزام بموجب أي نظرية قانونية يتجاوز سعر الشراء المدفوع مقابل الحصول على المنتج المدعى بأنه معيب.

التخزين والتخلص من المنتج

تُخزَّن محتويات Neogen طقم اليزا بروتين القوقع في 2-8°C. لا يجمد. تُخزَّن محاليل العمل المُخفَّفة كما هو موضّح في الجدول 1.

ينبغي عدم استخدام محتويات Neogen طقم اليزا بروتين القوقع بعد تاريخ انتهاء الصلاحية. تاريخ انتهاء الصلاحية ورقم المجموعة مسجلان على الملصق الخارجي للصندوق.

التخلُّص من المواد الكيميائية وفقًا للمعايير واللوائح المحلية والإقليمية والوطنية والصناعية الحالية.

إرشادات الاستخدام

اتبع كل الإرشادات بعناية. فقد تحصل على نتائج غير دقيقة إذا أخفقت في الالتزام بها.

إعداد الكواشف

اضبط جميع الكواشف على درجة حرارة الأجواء المُحيطة (20-25°C) قبل الاستخدام. استخدم أدوات معملية نظيفة لتخفيف وتخزين محاليل العمل.

أ. Neogen عامل الاستخلاص المنظِّم

لتحضير عامل الاستخلاص بتركيز (1X)، أضف جزءًا واحدًا من Neogen عامل الاستخلاص المنظِّم ذي التركيز (4X) وخففه في ثلاثة أجزاء من الماء المُقطَّر أو منزوع الأيونات. يجب تسخين عامل الاستخلاص ذي التركيز (1X) مسبقًا إلى 50-60°C في حمام مائي أو حضَّان هزاز قبل الاستخدام. تتطلب كل عينة 4.5 مليلترات من عامل الاستخلاص ذي التركيز 1X.

ب. Neogen المحلول المُخفِّف

لتحضير المحلول المُخفِّف بتركيز 1X، أضف جزءًا واحدًا من Neogen المحلول المخفِّف ذي التركيز (5X) وخففه في أربعة أجزاء من الماء المُقطَّر أو منزوع الأيونات. تتطلب كل عينة كمية إجمالية قدرها 4.5 مليلتر من المحلول المُخفَّف ذي التركيز 1X.

ج. Neogen محلول الغسيل

لتحضير محلول الغسيل بتركيز 1X، أضف جزءًا واحدًا من Neogen محلول الغسيل ذي التركيز (20X) وخففه في 19 جزءًا من الماء المُقطَّر أو منزوع الأيونات. يتطلب كل أنبوب من Neogen للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم 2.5 مليلتر تقريبًا من محلول الغسيل ذي التركيز 1X.

ملحوظة: قد يحدث تشكُّل البلورات في Neogen محلول الغسيل ذي التركيز (20X) عند تخزينه في درجة حرارة 2-8°C. ولتفكيك البلورات، يُسخَّن Neogen محلول الغسيل ذي التركيز (20X) إلى 30-35°C في حمام مائي أو حضَّان قبل تحضير محلول الغسيل ذي التركيز (1X).

د. Neogen مترافق القوقع لبيروكسيديز الفجل

لتحضير مترافق القوقع لبيروكسيديز الفجل بتركيز 1X، أضف جزءًا واحدًا من Neogen مترافق القوقع لبيروكسيديز الفجل ذي التركيز (10X) وخففه في 9 أجزاء من **محلول الغسيل ذي التركيز (1X)**. يُعدّ قبل الاستخدام مباشرةً. يتطلب كل أنبوب من Neogen للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) 100 ميكرولتر من مترافق القوقع لبيروكسيداز الفجل ذي التركيز 1X.

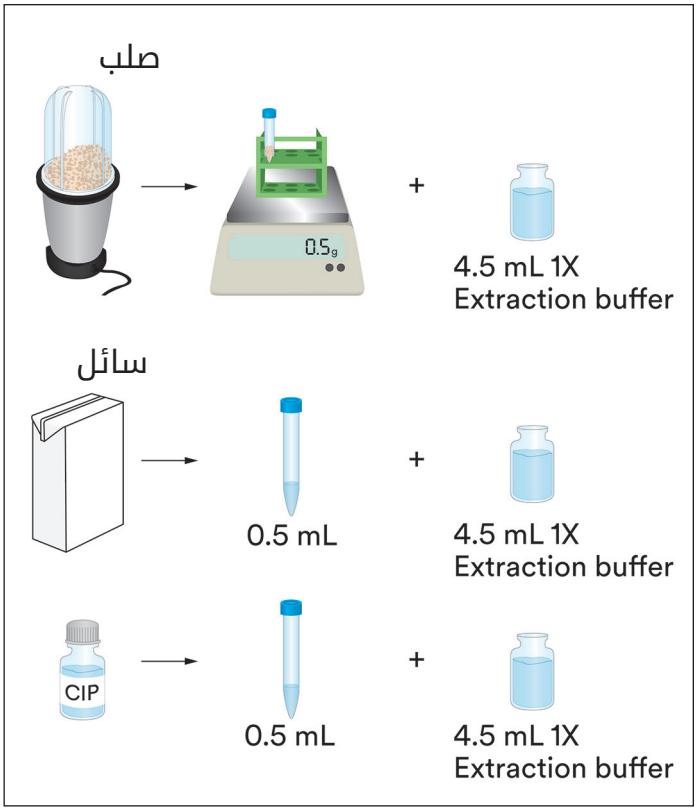
تحضير العينة

ملحوظة: ينبغي استخراج جميع العينات باستخدام عامل استخلاص مُنظِّم بتركيز 1X تم تسخينه مسبقًا إلى 50-60°C.

1.1 تُحضّر العينة لاستخراج البروتين في أنبوب اختبار نظيف أو أنبوب غير قابل لإعادة الاستعمال كما هو موضّح في الجدول 2.

الجدول 2. تحضير العينة

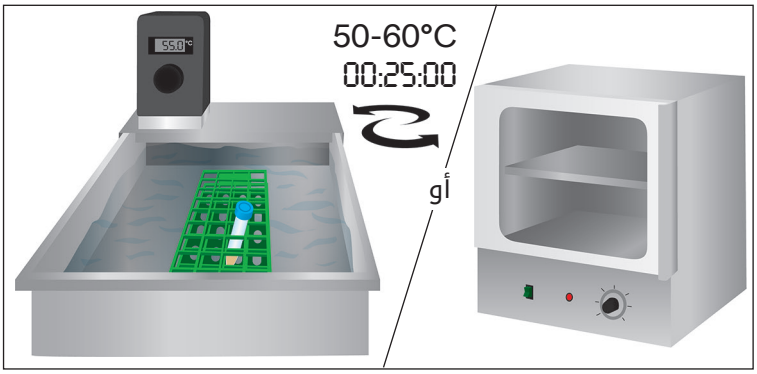
العينة الرئيسية	حجم العينة	التخفيف (1/10)
أغذية صلبة	0.5 ± 0.02 جم	أضف 4.5 ± 0.09 مليلتر من عامل الاستخلاص ذي التركيز 1X الذي سُخِّن مسبقًا
أغذية سائلة	0.5 ± 0.01 مليلتر	أضف 4.5 ± 0.09 مليلتر من عامل الاستخلاص ذي التركيز 1X الذي سُخِّن مسبقًا
مياه الشطف النهائي الخاصة بالتنظيف في المكان	0.5 ± 0.01 مليلتر	أضف 4.5 ± 0.09 مليلتر من عامل الاستخلاص ذي التركيز 1X الذي سُخِّن مسبقًا

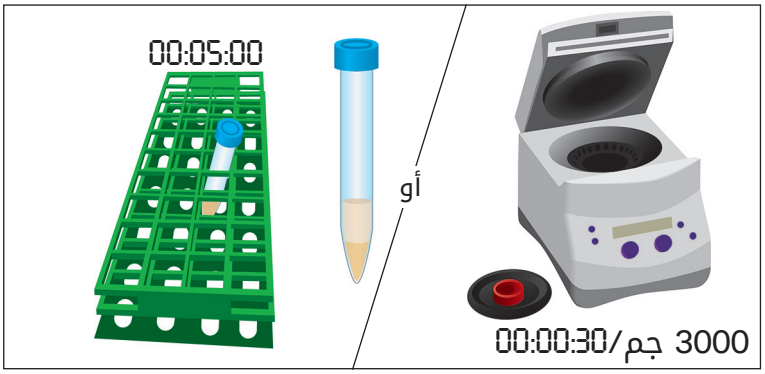


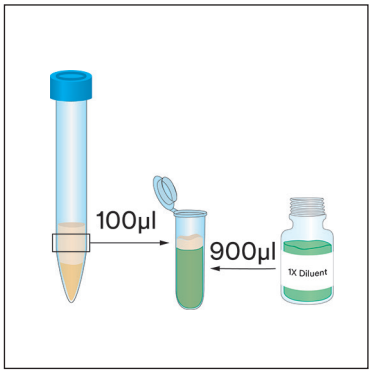
2.1 يجب تحضين العينات المُخفَّفة في حمام مائي هزاز أو حضَّان هزاز في درجة حرارة 50-60°C لمدة 25 ± 1 دقيقة. وهناك خيار آخر بترك العينات في حمام مائي أو حضَّان في درجة حرارة 50-60°C وهزّها يدويًا لمدة 1 دقيقة كل 5 دقائق.

3.1 بعد التحضين، توضع العينات في جهاز طرد مركزي يعمل بسرعة دوران 5000-7000 دورة في الدقيقة (3000 x g) لمدة 20 إلى 30 ثانية لتكوير الجسيمات أو السماح لها بالاستقرار لمدة 5 دقائق في حامل أنابيب الاختبار.

4.1 جمع 100 ميكرولتر من الطبقة (المائية) الوسطى وأضفه إلى 900 ميكرولتر من المحلول المخفِّف المُنظِّم ذي التركيز (1X). حرّك العينة في شكل دوامة أو هزّها ليمتزج الخليط جيدًا. (ويعادل ذلك تخفيف العينة الأصلية بمقدار 1/100.)







إجراءات الفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا)

1.2 أزل أنبوبًا واحدًا من أنابيب Neogen للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) لكل عينة و/أو معيار ووضع الأنابيب في الحامل. أعِد أنابيب Neogen للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) غير المُستخدَمة إلى الكيس المعدني وأعِد غلقه وتخزينه في درجة حرارة 2-8°C.

2.2 باستخدام Neogen بروتين الكونسينترات القياسي لبروتين القوقع، أعدّ مجموعة من أربعة معايير مُخفَّفة في محلول التخفيف المُنظِّم ذي التركيز (1X).

رقم المعيار	تركيز المعيار (نانوجرام/مليلتر)	حجم المعيار المُضاف إلى المحلول المخفّف ذي التركيز (1X)	حجم المحلول المُخفِّف ذي التركيز 1X
4	270	10 ميكرولتر من Neogen بروتين الكونسينترات القياسي لبروتين القوقع	990 ميكرولتر
3	90	200 ميكرولتر من المعيار رقم 4	400 ميكرولتر
2	30	200 ميكرولتر من المعيار رقم 3	400 ميكرولتر
1	10	200 ميكرولتر من المعيار رقم 2	400 ميكرولتر
0	0	0	400 ميكرولتر

3.2 ماصَّة سعة 100 ميكرولتر من كل معيار في أنابيب Neogen للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا).

- المعيار 0 (المحلول المخفِّف المُنظِّم بتركيز 1X)
- المعيار 1 (10 نانوجرام/مليلتر) جزء في المليار
- المعيار 2 (30 نانوجرام/مليلتر) جزء في المليار
- المعيار 3 (90 نانوجرام/مليلتر) جزء في المليار
- المعيار 4 (270 نانوجرام/مليلتر) جزء في المليار

4.2 ماصَّة سعة 100 ميكرولتر من العينة المُستخرَجة والمُحضَّرة في 1.4 داخل أحد أنابيب Neogen للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا).

5.2 يجب تحضين أنابيب Neogen للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) في جهاز الهزّاز الدوراني المضبوط على سرعة دوران 400 دورة في الدقيقة ودرجة حرارة مُحيطة مقدارها (20-25°C) لمدة 30 ± 2 دقيقة. حافظ على تغطية الأنابيب واستوائها خلال هذه الخطوة لمنع التبخُّر.

6.2 بعد التحضين، تُسحَب محتويات أنابيب Neogen للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا).

7.2 املأ كل أنبوب من أنابيب Neogen للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) بشكل كامل بمحلول الغسيل ذي التركيز 1X ثم اسحبها. إذا تمت عملية الغسيل يدويًا، فاعكس اللوح واسكب أو هز المحتويات للخارج في حاوية نفايات واطرق الأنابيب بشدة على ورقة ماصَّة لإزالة محلول الغسيل المتبقي. كرر هذه الخطوة ثلاث مرات في أربع عمليات غسيل إجمالاً.

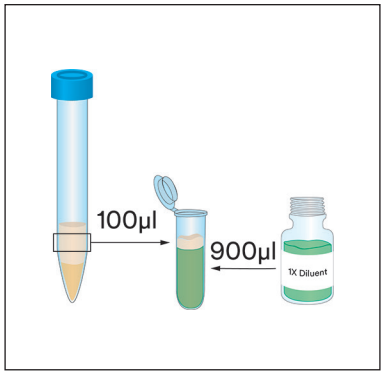
8.2 ماصَّة سعة 100 ميكرولتر من مترافق القوقع لبيروكسيديز الفجل بتركيز 1X في كل أنبوب من أنابيب Neogen للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا). يجب التحضين في جهاز الهزاز الدوراني المضبوط على سرعة دوران 400 دورة في الدقيقة ودرجة الحرارة المُحيطة لمدة 10 ± 2 دقيقة. حافظ على تغطية اللوح ووضعه في الظلام واستوائه خلال هذه الخطوة.

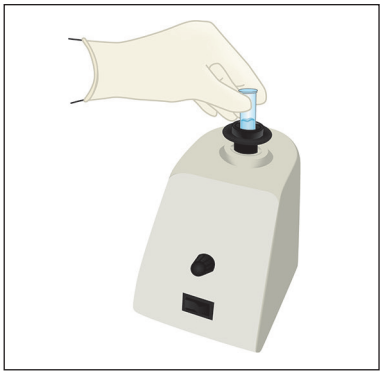
9.2 كرر الخطوتيْن 2.6 و2.7 لإكمال ما مجموعه أربع عمليات غسيل باستخدام محلول غسيل بتركيز (1X).

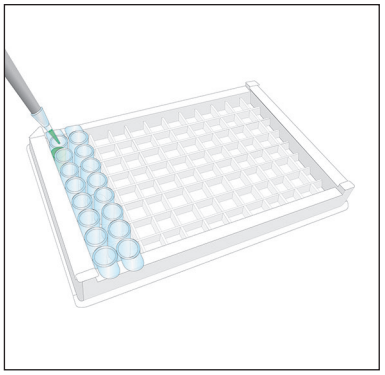
01.2 ماصَّة سعة 100 ميكرولتر من Neogen محلول الطبقة التحتية الصبغية تيتراميثيلبنزيدين (TMB) في كل أنبوب من أنابيب Neogen للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا).

11.2 يجب التحضين في جهاز الهزاز الدوراني المضبوط على سرعة دوران 400 دورة في الدقيقة ودرجة الحرارة المُحيطة لمدة 10 دقائق. حافظ على تغطية اللوح ووضعه في الظلام واستوائه خلال هذه الخطوة.

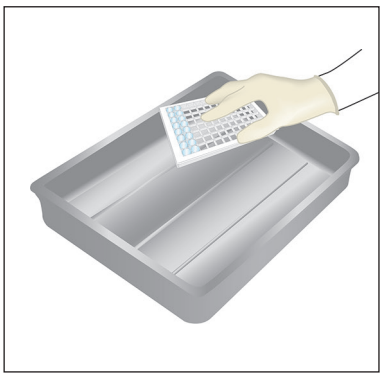
21.2 بعد التحضين، أضف 100 ميكرولتر من Neogen محلول التوقف في كل أنبوب من أنابيب Neogen للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) وحدّد الامتصاصية (في 450 نانومتر) خلال 30 دقيقة.

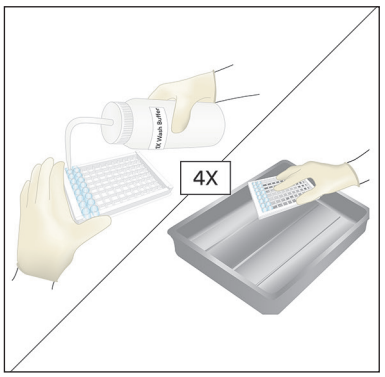


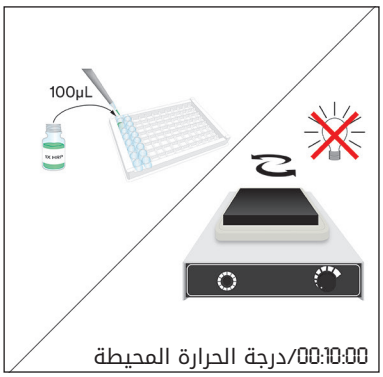


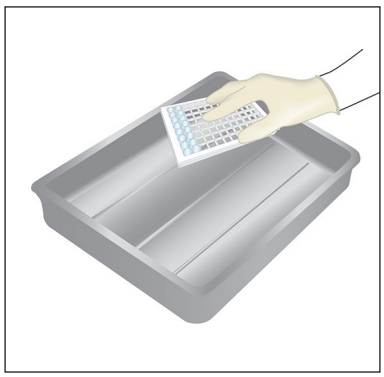


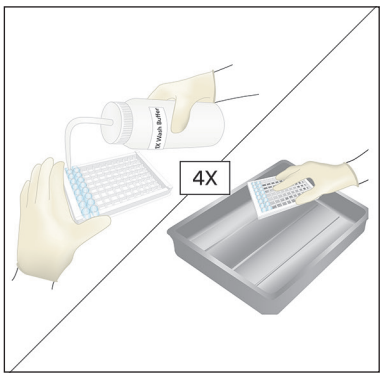




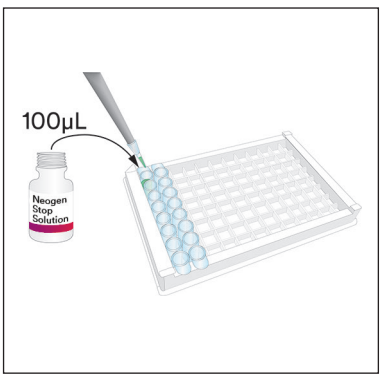


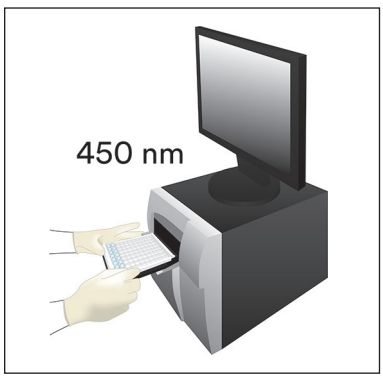












تحليل النتائج

1.3 اطرح متوسط القيمة الأساسية لكل عينة (متوسط قراءة الامتصاصية للعينة مطروحًا منها متوسط قراءة الامتصاصية للمعيار صفر.)

2.3 وباستخدام برنامج حاسوبي قادر على توليد منحنى لوجستي رباعي المتغيرات متوافق، أنشئ مُنحنى معياريًا برسم مُخطط للتركيز بالنانوجرام / مليلتر (جزء في المليار) على المحور السيني وقراءة الامتصاصية لكل معيار مُناظر على المحور الصادي. ويمكن أيضًا استخدام دالة متعددة الحدود من الدرجة الثانية (دالة تربيعية) أو منحنى متوافق آخر؛ ومع ذلك، فإنها ستكون أقل دقة من ناحية توافق البيانات.

3.3 احتسب تركيزات العينة من المنحنى المعياري؛ تُقدَّر وحدة النتيجة بالنانوجرام/مليلتر (جزء في المليار). ثم اضرب في عامل تخفيف العينة للحصول على تركيز العينة الأصلية. فعلى سبيل المثال، إذا كان التخفيف الكلي للعينة هو 1/100 وكان تركيز العينة من المنحنى المعياري 200 نانوجرام/مليلتر (جزء في المليار)، فإن التركيز النهائي للعينة يكون 200 نانوجرام/مليلتر × 100 = 20,000 نانوجرام/مليلتر (جزء في المليار) وهو 20 ميكروجرام/مليلتر (جزء في المليون).

خصائص أدنى أداء

أ. حد الكشف التحليلي (LOD) هو 7.2 نانوجرام/مليلتر (جزء في المليار)

يُعرَّف حد الكشف بأنه أدنى تركيز لمولِّد الحساسية في عينة اختبار يمكن تمييزها عن عينة حقيقية خالية عند مستوى احتمال مُحدَّد [3]. ويُحدّد من خلال إضافة ثلاثة انحرافات معيارية إلى متوسط قيمة الكثافة الضوئية من ثمانية وأربعين من مضاعفات المعيار صفر وحساب التركيز المُناظر.

ب. حد القياس الكمي (LOQ) هو 1 جزء في المليون

يُعرَّف حد القياس الكمي بأنه أدنى تركيز لمولِّد الحساسية في عينة اختبار يمكن قياسها بشكل صحيح عند مستوى معين من الدقة [3].

الدقة

الدقة في المقايسة في ذات الوقت	متوسط CV% = <10	N=12
الدقة في المقايسة بين أوقات متباينة	متوسط CV% = <10	N=12

المراجع

1. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, title 21, part 58. Good Laboratory Practices for Nonclinical Laboratory Studies.
2. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
3. Abbott, M., Hayward, S., Ross, W., Godefroy, S.B., Ulberth, F., Van Hengel, A. J., Roberts, J., Akiyama, H., Popping, B., Yeung, J.M., Wehling, P., Taylor, S., Poms, R.E., and Delahaut, P. (2010). Appendix M: Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices. *J. AOAC Int.* 93, 442-450.

شرح الرموز

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
Neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

Neogen is a trademark of Neogen Corporation.
© Neogen Corporation 2024.
Unauthorized use prohibited. All rights reserved.

Neogen est une marque de commerce de la Compagnie Neogen.
© Neogen Corporation 2024. Toute utilisation non autorisée est interdite. Tous droits réservés.

FS00895A

Neogen Corporation
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com