





















-  **(EN) Almond Protein ELISA Kit**
-  **(FR) Kit ELISA Protéine d'Amande**
-  **(DE) Mandel Protein ELISA Kit**
-  **(IT) Kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mandorla**
-  **(ES) Kit ELISA para Proteína de Almendra**
-  **(NL) Amandel Proteïne ELISA test**
-  **(SV) Almond Protein ELISA Kit**
-  **(DA) Mandel Protein ELISA Kit**
-  **(NO) Mandelprotein ELISA Kit**
-  **(PT) Kit ELISA para Proteína de Amêndoa**
-  **(EL) Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου**
-  **(PL) Zestaw ELISA do wykrywania białek obecnych w migdałach**
-  **(RU) ELISA набор (протеин миндаля)**
-  **(TR) Badem Proteinini ELISA Kiti**
-  **(JA) アーモンドプロテインELISAキット**
-  **(ZH) 杏仁蛋白 ELISA 检测试剂盒**
-  **(TH) ชุดทดสอบ ELISA ตรวจสอบโปรตีนจากอัลมอนด์**
-  **(KO) 아몬드 단백질 ELISA 키트**
-  **(ID) ELISA Kit Protein Almond**
-  **(AR) طقم اليزا اللوز**

Product Instructions

Almond Protein ELISA Kit

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

Product Description and Intended Use





The 3M™ Almond Protein ELISA Kit is intended for the detection of almond proteins in clean-in-place water (CIP) final rinse water, environmental swab samples, food ingredients, and processed food products.

The 3M Almond Protein ELISA Kit utilizes a sandwich ELISA. The almond proteins present in the sample react with the anti-almond antibody, which have been adsorbed to the surface of polystyrene microtiter wells. After the removal of unbound proteins by washing, anti-almond antibodies conjugated with horseradish peroxidase (HRP) are added. These enzyme-labeled antibodies form complexes with the previously bound almond 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 almond protein in the sample tested; thus, the absorbance, at 450 nm, is a measure of the concentration of almond protein in the test sample. The quantity of almond 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 3M Almond Protein ELISA Kit is intended for use in a laboratory environment by professionals trained in laboratory techniques. 3M has not documented the use of this product in industries other than food or beverage. For example, 3M has not documented this product for testing pharmaceutical, cosmetic, clinical or veterinary samples. The 3M Almond Protein ELISA Kit has not been evaluated with all possible food products, food processes and testing protocols.

The 3M Almond 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 |
|---|---|---|--|--|
| 3M™ Almond 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. |
| 3M™ Almond 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. |
| 3M™ Almond Protein Standard Concentrate  | One vial with a known concentration of almond protein. | Refer to the ELISA Procedure Section for standard preparation. | 2-8°C. Do not freeze. | 3M Almond Protein Standard concentrate is stable until the expiration date of the kit. |
| 3M™ 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 3M Diluent Buffer is stable until the expiration date of the kit. |



| | | | | |
|--|--|--|---|--|
| 3M™ 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 3M Wash Solution is stable until the expiration date of the kit. The 1X Wash Solution is stable for at least one week after preparation. |
| 3M™ 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 3M Extraction Buffer concentrate. | The 1X Extraction Buffer and 4X 3M Extraction Buffer are stable until the expiration date of the kit. |
| 3M™ 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 3M Chromogenic Substrate Solution is stable until the expiration date of the kit. |
| 3M™ Stop Solution  | One bottle of 12 mL of 0.3 M sulfuric acid. | Ready to use. | 2-8°C | The 3M 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 3M Almond 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 Practices¹ or ISO 17025².
- Always follow standard laboratory safety practices, including wearing appropriate protective apparel and eye protection while handling reagents.
- Avoid skin contact with the 3M 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 3M Almond Protein ELISA Kit as indicated on the package and in the product instructions.
- Use the 3M Almond 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.
- 3M has not documented the use of the 3M Almond Protein ELISA Kit in industries other than food or beverage. For example, 3M 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 3M Almond Protein ELISA Kit by the expiration date.
- Always prepare working solutions using the 3M Almond Protein ELISA Kit concentrated reagents at 20-25°C temperature.
- Do not freeze the 3M Almond Protein Standard Concentrate.
- If Chromogenic Substrate Solution turns blue, do not use. Follow Good Laboratory Practices¹ to avoid cross contamination of 3M Chromogenic Substrate Solution.

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 3M Almond Protein Standards following Good Laboratory Practices¹ 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.3M.com/foodsafety or contact your local 3M representative or distributor.

User Responsibility

Users are responsible for familiarizing themselves with product instructions and information. Visit our website at www.3M.com/foodsafety, or contact your local 3M 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 3M 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, 3M DISCLAIMS ALL EXPRESS AND IMPLIED WARRANTIES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO, ANY WARRANTIES OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR USE. If any 3M Food Safety Product is defective, 3M or its authorized distributor will, at its option, replace or refund the purchase price of the product. These are your exclusive remedies. You must promptly notify 3M within sixty days of discovery of any suspected defects in a product and return it to 3M. Please call Customer Service (1-800-328-1671 in the U.S.) or your official 3M Food Safety representative for a Returned Goods Authorization.

Limitation of 3M Liability

3M 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 3M's liability under any legal theory exceed the purchase price of the product alleged to be defective.

Storage and Disposal

Store 3M Almond Protein ELISA Kit contents at 2-8°C. Do not freeze. Store diluted working solutions as described in Table 1.



3M Almond 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. 3M Extraction Buffer

To prepare 1X Extraction Buffer, add one part of 3M 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. 3M Diluent Solution

To prepare 1X Diluent solution, add one part of 3M Diluent (5X) to four parts of deionized or distilled water. Each sample requires a total of 4.5 mL of 1X Diluent solution.

c. 3M Wash Solution

To prepare 1X Wash Solution, add one part of 3M Wash Solution (20X) to 19 parts of deionized or distilled water. Each 3M ELISA Well requires approximately 2.5 mL of 1X Wash Solution.

Note: The formation of crystals in the 3M Wash Solution (20X) may occur when stored at 2-8°C. To dissolve crystals, warm the 3M Wash Solution (20X) to 30-35°C in a water bath or incubator before preparing the Wash Solution (1X).

d. 3M Almond HRP Conjugate

To prepare 1X Almond HRP Conjugate, add one part of 3M Almond HRP Conjugate (10X) and dilute in 9 parts of 1X Diluent solution. Prepare immediately before use. Each 3M ELISA Well requires 100 µL of 1X Almond HRP Conjugate.

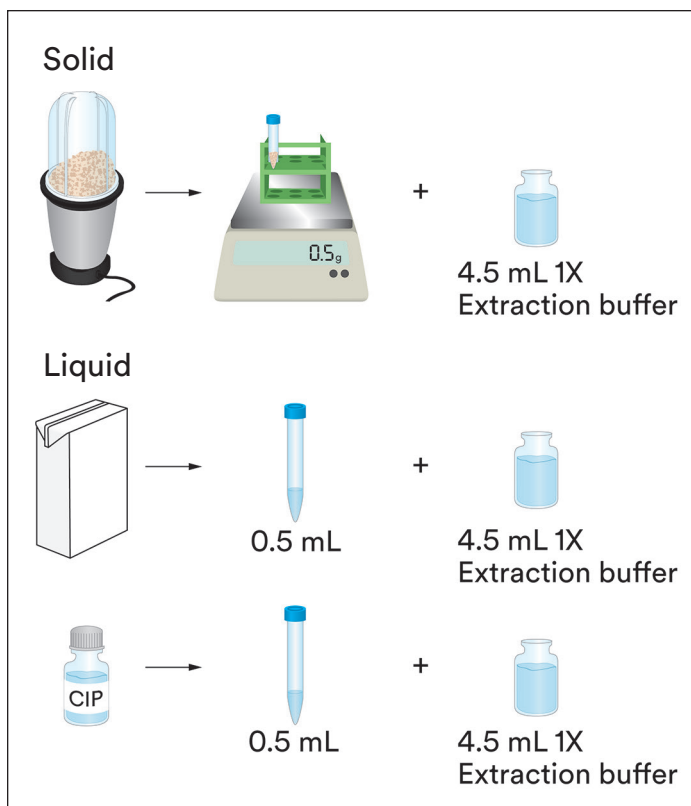
Sample Preparation

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

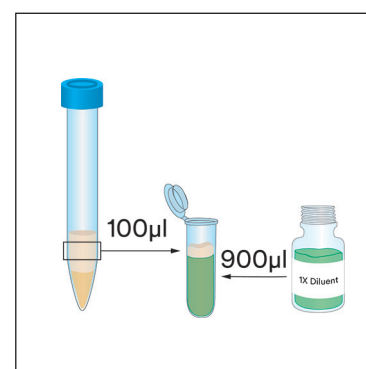
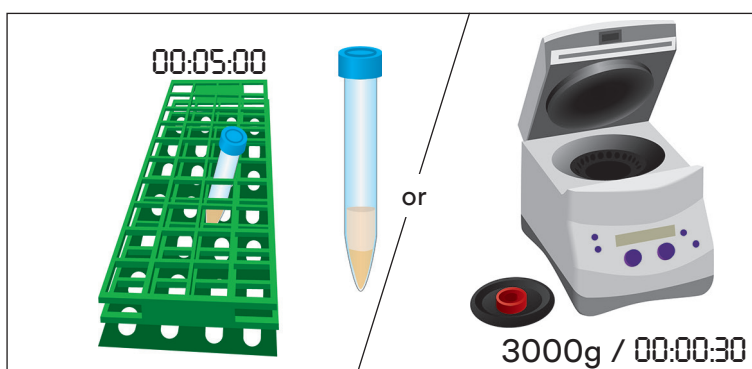
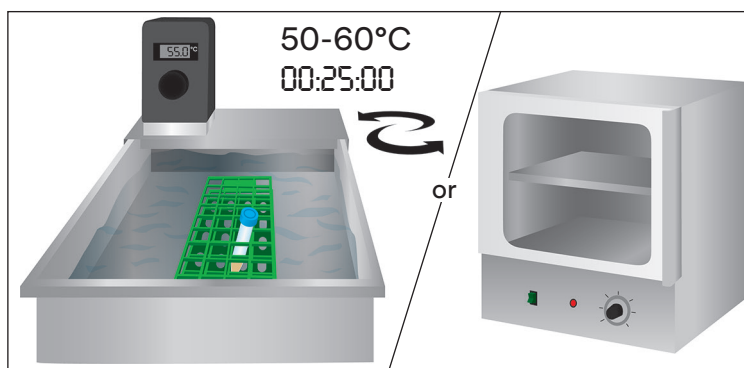
1.1 Prepare sample for protein extraction in a clean test tube or disposable tube as described in Table 2.

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 Buffer (1X). Vortex or shake to mix well (This corresponds to a 1/100 dilution of the original sample.)



ELISA Procedure

- 2.1 Remove one 3M ELISA Well per sample and/or standard and place the wells in the well holder. Return the unused 3M ELISA Wells to the foil pouch, re-seal and return to storage at 2-8°C.
- 2.2 Utilizing the 3M™ Almond Protein Standard Concentrate, prepare a set of four standards diluted in Diluent Buffer (1X).

| Standard Number | Standard Concentration (ng/mL) | Volume of standard added to 1X Diluent | Volume of 1X Diluent solution |
|-----------------|--------------------------------|---|-------------------------------|
| 4 | 270 | 10 µL of 3M Almond 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 3M ELISA Wells.

- Standard 0 (1X Diluent Buffer)
- 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 3M ELISA Well.

- 2.5 Incubate 3M 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 3M ELISA Wells.

- 2.7 Fill completely each 3M 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.

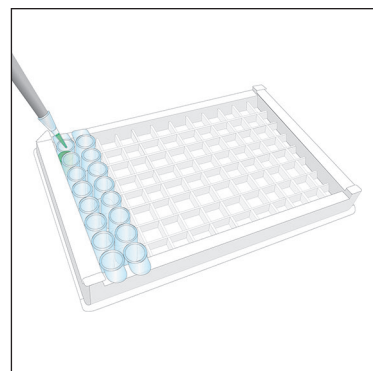
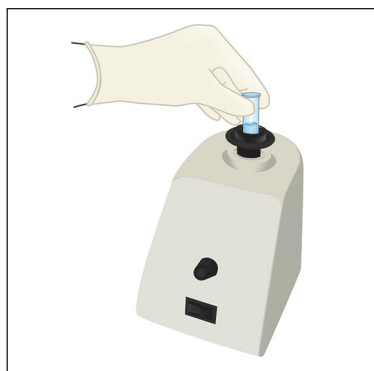
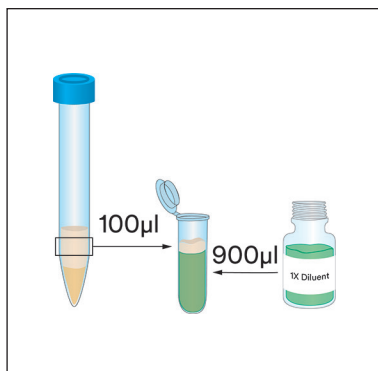
- 2.8 Pipette 100 µL of 1X Almond HRP Conjugate into each 3M ELISA Well. Incubate on an orbital shaker set at 400 rpm at ambient temperature for 10 ± 2 minutes. Keep plate covered in the dark and level during this step.

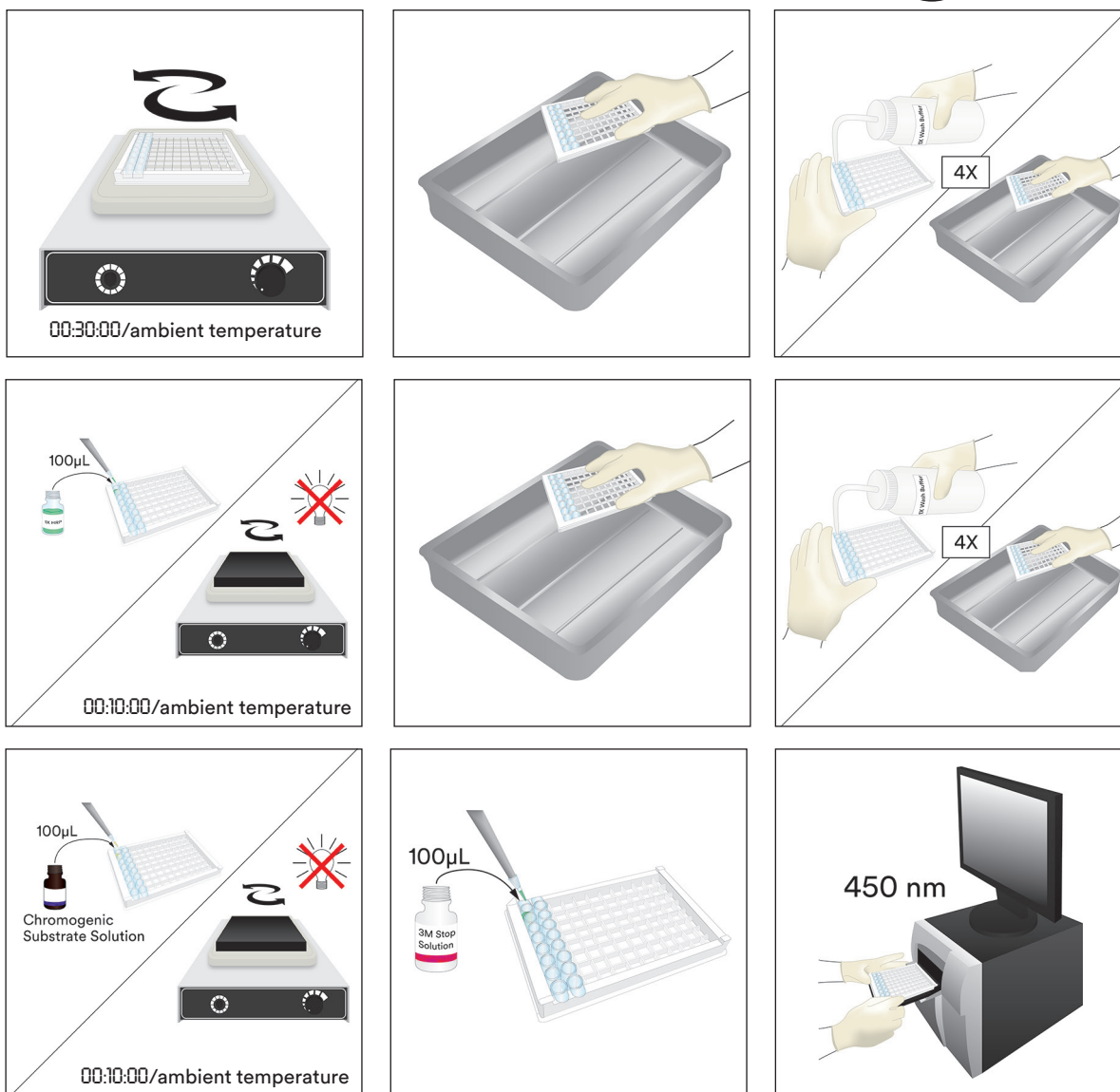
- 2.9 Repeat steps 2.6 and 2.7 to complete a total of four washes with Wash Solution (1X).

- 2.10 Pipette 100 µL of 3M Chromogenic Substrate Solution (TMB) into each 3M 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 3M Stop Solution to each 3M 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 $200 \text{ ng/mL} \times 100 = 20,000 \text{ ng/mL (ppb)}$ which is 20 µg/mL (ppm) .

Minimum Performance Characteristics

- a. The Limit of Detection (LOD) is 1.9 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 level³. 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 precision³.

Precision

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

Specificity and Cross-Reactivity

This assay recognizes almond protein and was tested versus various samples for cross-reactivity (Table 3.)

Table 3. Cross-reactivity of the 3M Almond Protein ELISA Kit.

| Matrix sample | % Cross-reactivity |
|------------------|--------------------|
| Almond flour | (+) |
| Almond Milk | (+) |
| BLG | <1% |
| Bovine Casein | <1% |
| Bovine Milk | <1% |
| Brazil Nut | <1% |
| Buckwheat flour | <1% |
| Cashew | <1% |
| Celery | <1% |
| Chickpea | <1% |
| Coconut flour | <1% |
| Coconut Milk | <1% |
| Corn flour | <1% |
| Fish Parvalbumin | <1% |
| Hazelnut | <1% |
| Lima Bean | <1% |
| Macadamia Nut | <1% |
| Mustard Seed | <1% |
| Ovomucoid | <1% |
| Pea Extract | <1% |
| Peanut flour | <1% |
| Pecan | <1% |
| Pine Nut | <1% |
| Pistachio flour | <1% |
| Pumpkin Seed | <1% |
| Scallop | <1% |
| Sesame Seed | <1% |
| Shrimp | <1% |
| Sorghum flour | <1% |
| Soy flour | <1% |
| Soy Milk | <1% |
| Sunflower Seed | <1% |
| Walnut | <1% |



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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

Instructions relatives au produit

Kit ELISA Protéine d'Amande

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

Description et utilisation du produit




Le Kit ELISA 3M™ Protéine d'Amande est conçu pour détecter des protéines d'amande 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 3M Protéine d'Amande utilise un test ELISA en sandwich. Les protéines d'amande présentes dans l'échantillon réagissent avec les anticorps anti-amande 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 couplés à la peroxydase de raifort (HRP). Ces anticorps marqués par l'enzyme forment des complexes avec la protéine d'amande 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 d'amande dans l'échantillon testé ; par conséquent, l'absorbance à 450 nm représente une mesure de la concentration de protéine d'amande dans l'échantillon testé. La quantité de protéine d'amande 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 3M Protéine d'Amande est conçu pour être utilisé en laboratoire, par des professionnels formés aux techniques de laboratoire. 3M n'a pas étudié l'utilisation de ce produit dans des secteurs autres que ceux de l'alimentaire et des boissons. Par exemple, 3M n'a pas analysé ce produit dans le cadre de tests sur des échantillons de produits pharmaceutiques, cosmétiques, cliniques ou vétérinaires. Le Kit ELISA 3M Protéine d'Amande n'a pas été évalué avec tous les produits, processus alimentaires et protocoles de tests possibles.

Le Kit ELISA 3M Protéine d'Amande 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 3M™ Protéine d'Amande  | 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 3M™ Amande (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 3M™ Protéine Amande  | Une ampoule de solution de protéine d'amande 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 3M Protéine Amande est stable jusqu'à la date de péremption du kit. |



| | | | | |
|--|---|---|--|---|
| Diluant 3M™ (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 | Le Tampon de dilution 3M 5X est stable jusqu'à la date de péremption du kit. |
| Solution de lavage 3M™ (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 3M 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 3M™ 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 3M 4X. | Le Tampon d'extraction 1X et le Tampon d'extraction 3M 4X sont stables jusqu'à la date de péremption du kit. |
| Solution de substrat chromogène 3M™  | 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 3M est stable jusqu'à la date de péremption du kit. |
| Solution d'arrêt 3M™  | Un flacon de 12 mL d'acide sulfurique à 0,3 M. | Prêts à l'emploi. | 2 à 8 °C | La Solution d'arrêt 3M est stable jusqu'à la date de péremption du kit. |

Matériel non fourni 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 plaque 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 3M Protéine d'Amande. 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.

⚠ AVERTISSEMENT

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 laboratoire¹ ou à la norme ISO 17025².
- 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 3M 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 3M Protéine d'Amande conformément aux indications fournies sur l'emballage et dans les instructions relatives au produit.
- Utiliser le Kit ELISA 3M Protéine d'Amande 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 du produit.
- 3M n'a pas étudié l'utilisation du Kit ELISA 3M Protéine d'Amande dans des secteurs autres que ceux de l'alimentaire et des boissons. Par exemple, 3M n'a pas analysé 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 3M Protéine d'Amande avant sa date de péremption.
- Toujours préparer les solutions de travail en utilisant les réactifs concentrés du Kit ELISA 3M Protéine d'Amande portés à une température de 20 à 25 °C.
- Ne pas congeler l'Étalon concentré 3M Protéine d'Amande.
- Si la Solution de substrat chromogène bleuit, ne pas l'utiliser. Conformez-vous aux Bonnes pratiques de laboratoire¹ pour éviter la contamination croisée par la Solution de substrat chromogène 3M.

REMARQUE

Pour réduire les risques liés aux résultats inexacts :

- 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 3M Protéine d'Amande en respectant les Bonnes pratiques de laboratoire¹ pour éviter la contamination croisée des échantillons.

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

Pour vous renseigner sur la documentation sur les performances de ce produit, veuillez consulter notre site Internet www.3M.com/foodsafety ou contacter un représentant ou distributeur 3M local.

Responsabilité de L'utilisateur

Il incombe aux clients et aux utilisateurs de connaître les instructions et les informations. Veuillez visiter notre site www.3M.com/foodsafety pour consulter les instructions les plus récentes ou contacter votre représentant ou distributeur 3M.

Comme pour toutes les autres méthodes de test utilisées à des fins d'analyses alimentaires, la matrice analysée peut influencer 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 influencer 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 avec n'importe quelle méthode de test, les résultats obtenus avec ce produit 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, 3M 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 de Sécurité Alimentaire 3M, 3M 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. Tout défaut supposé du produit devra être notifié à 3M dans un délai de soixante jours et le produit renvoyé au fournisseur. Veuillez appeler le Service clientèle (1-800-328-1671 aux États-Unis) ou votre représentant 3M en produits de microbiologie pour obtenir une autorisation de renvoi.

Limitation de Responsabilité de 3M

3M 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 3Ms ne sera engagée au-delà du prix d'achat du produit prétendu défectueux.

Conservation et traitement des déchets

Conserver le contenu du Kit ELISA 3M Protéine d'Amande à 2 à 8 °C. Ne pas congeler. Conserver les solutions de travail comme décrit dans le Tableau 1.

Le contenu du Kit ELISA 3M Protéine d'Amande 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 extérieure 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 3M

Pour préparer le Tampon d'extraction 1X, verser un volume de Tampon d'extraction 3M (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 3M

Pour préparer la solution de Diluant 1X, verser un volume de Diluant 3M (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 3M

Pour préparer la Solution de lavage 1X, verser un volume de Solution de lavage 3M (20X) dans 19 volumes d'eau distillée ou désionisée. Chaque Puits ELISA 3M nécessite environ 2,5 mL de Solution de lavage 1X.

Remarque : Il peut se former des cristaux dans la Solution de lavage 3M (20X) lorsqu'elle est conservée à 2 à 8 °C. Pour dissoudre les cristaux, portez la Solution de lavage 3M (20X) à 30 à 35 °C au bain-marie ou dans un incubateur avant de préparer la Solution de lavage (1X).

d. Conjugué HRP 3M Amande

Pour préparer le Conjugué HRP Amande 1X, verser un volume de Conjugué HRP 3M Amande (10X) et le diluer dans 9 volumes de solution de Diluant. Préparer juste avant utilisation. Chaque Puits ELISA 3M nécessite 100 µL de Conjugué HRP Amande 1X.

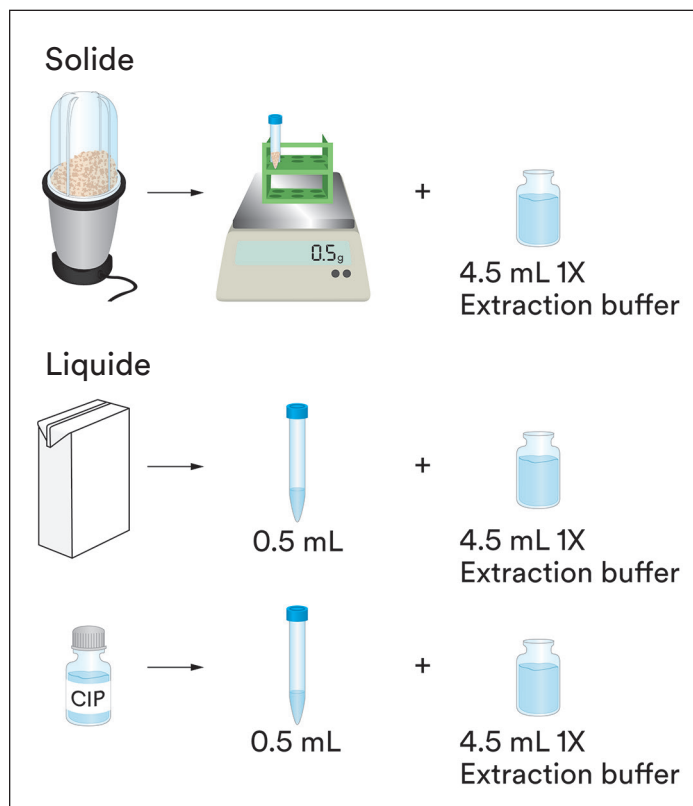
Préparation de l'échantillon

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

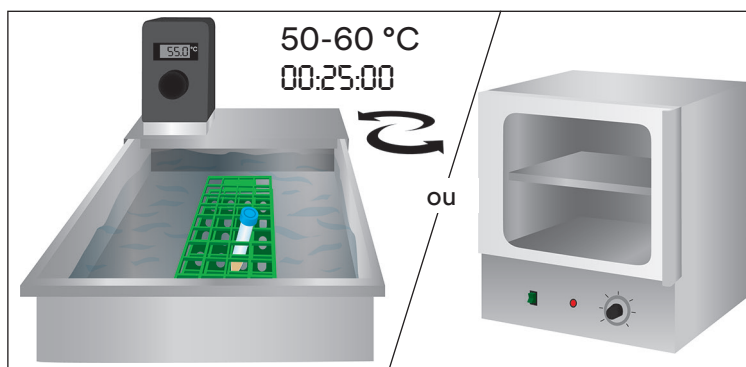
- 1.1 Préparer l'échantillon pour l'extraction des protéines, dans une éprouvette propre ou un tube jetable, comme décrit dans le Tableau 2.

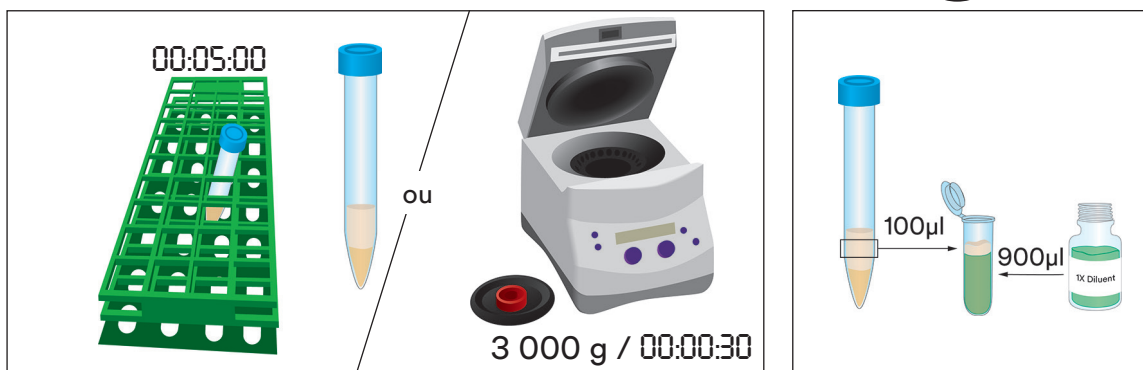
Tableau 2. Préparation de l'échantillon

| Matrice de l'échantillon | Taille de l'échantillon | Dilution (1/10) |
|---|-------------------------|---|
| Aliments solides | $0,5 \pm 0,02$ g | Verser $4,5 \pm 0,09$ mL de Tampon d'extraction 1X préchauffé |
| Aliments liquides | $0,5 \pm 0,01$ mL | Verser $4,5 \pm 0,09$ mL de Tampon d'extraction 1X préchauffé |
| Eau de rinçage final d'un processus de nettoyage (PN) | $0,5 \pm 0,01$ mL | Verser $4,5 \pm 0,09$ 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 minutes. 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 ($3\,000 \times g$) 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 μ L de phase aqueuse au milieu du tube et les ajouter à 900 μ L de Tampon de dilution (1X). Passer au vortex ou agiter pour bien mélanger. (Cette solution correspond à une dilution à 1/100 de l'échantillon de départ.)



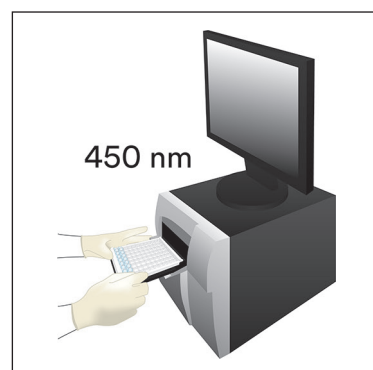
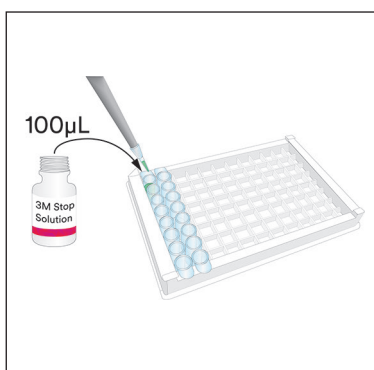
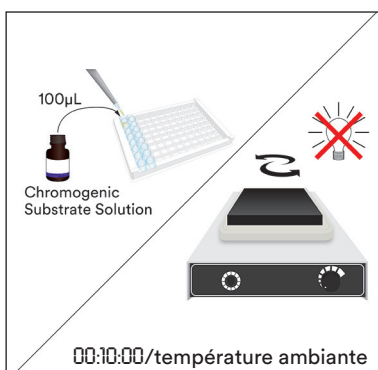
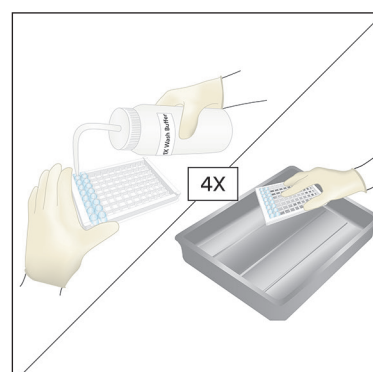
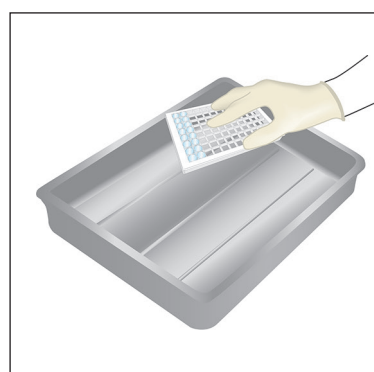
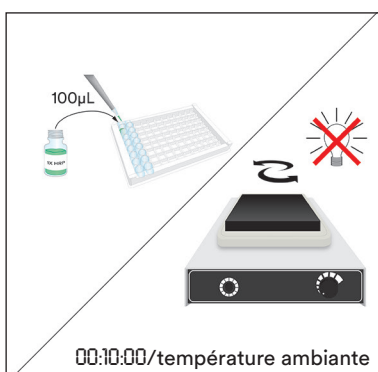
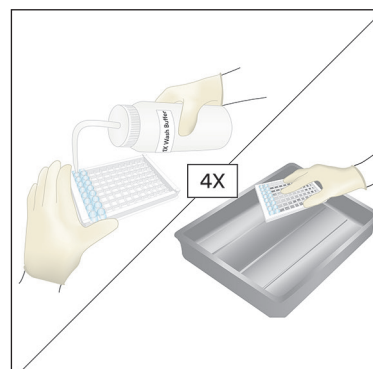
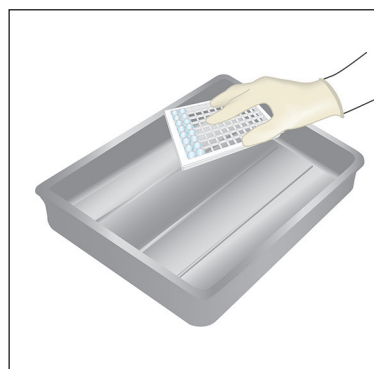
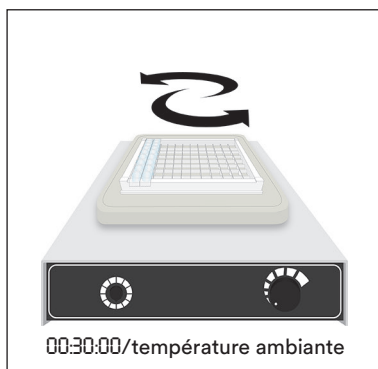
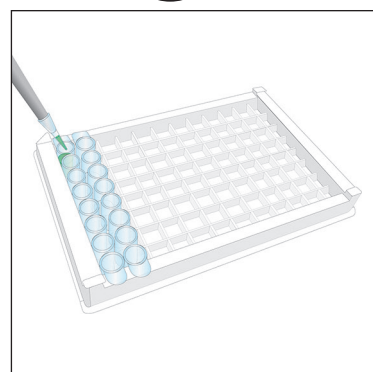
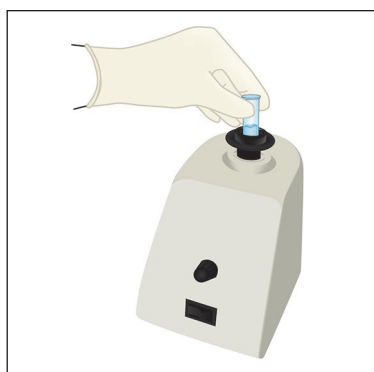
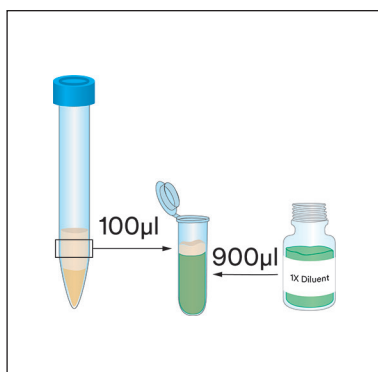


Procédure du test ELISA

- 2.1 Prélever un Puits ELISA 3M par échantillon et/ou étalon et placer les puits dans le support à micropuits. Remettre les Puits ELISA 3M 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 3M™ Protéine d'Amande, préparer une série de quatre solutions étalons, diluées dans le Tampon de dilution (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 3M Protéine d'Amande | 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 3M .
- Étalon 0 (Tampon de dilution 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 3M .
- 2.5 Incuber les puits ELISA 3M 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 3M.
- 2.7 Remplir complètement chaque Puits ELISA 3M 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 Amande 1X dans chaque Puits ELISA 3M. 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 3M dans chaque Puits ELISA 3M.
- 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 3M dans chaque Puits ELISA 3M 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 $200 \text{ ng/mL} \times 100 = 20\,000 \text{ ng/mL}$ (ppb), soit $20 \text{ } \mu\text{g/mL}$ (ppm).

Caractéristiques de performance minimale

- a. La Limite de détection (LOD) est de 1,9 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 spécifié³. 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 spécifié³.

Précision

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

Spécificité et réactivité croisée

Ce test, qui détecte les protéines d'amande, a été testé sur divers échantillons pour analyser la réactivité croisée (Tableau 3).

Tableau 3. Réactivité croisée du Kit ELISA 3M Protéine d'Amande.

| Matrice d'échantillons | % réactivité croisée |
|-------------------------|----------------------|
| Farine d'amande | (+) |
| Lait d'amande | (+) |
| BLG | < 1 % |
| Caséine bovine | < 1 % |
| Lait de vache | < 1 % |
| Noix du Brésil | < 1 % |
| Farine de sarrasin | < 1 % |
| Noix de cajou | < 1 % |
| Céleri | < 1 % |
| Pois chiche | < 1 % |
| Farine de noix de coco | < 1 % |
| Lait de noix de coco | < 1 % |
| Farine de maïs | < 1 % |
| Parvalbumine de poisson | < 1 % |
| Noisette | < 1 % |
| Haricot de Lima | < 1 % |
| Noix de macadamia | < 1 % |
| Graine de moutarde | < 1 % |
| Ovomucoïde | < 1 % |
| Extrait de pois | < 1 % |
| Farine d'arachide | < 1 % |
| Noix de pécan | < 1 % |
| Pignon de pin | < 1 % |

| | |
|---------------------|-------|
| Farine de pistache | < 1 % |
| Graine de courge | < 1 % |
| Pétoncle | < 1 % |
| Graine de sésame | < 1 % |
| Crevette | < 1 % |
| Farine de sorgho | < 1 % |
| Farine de soja | < 1 % |
| Lait de soja | < 1 % |
| Graine de tournesol | < 1 % |
| Noix | < 1 % |

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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

Gebruuchsanweisungen

Mandel Protein ELISA Kit

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

Produktbeschreibung und Verwendungszweck

Das 3M™ Mandel Protein ELISA Kit ist für das Screening auf Vorhandensein von Mandel Proteinen in Clean-in-Place-Spülwasser (CIP), Umfeldabstrichen, Lebensmittelzutaten und verarbeiteten Lebensmitteln bestimmt.

Das 3M Mandel Protein ELISA Kit verwendet die Technik Sandwich-ELISA. Die in der Probe vorhandenen Mandel Proteine reagieren mit dem Mandel-Antikörper, der adsorptiv an die Oberfläche von Polystyrol-Mikrotiterplatten gebunden wurde. Nach dem Entfernen ungebundener Proteine durch Auswaschen werden die Mandel-Antikörper, die mit Meerrettichperoxidase (HRP) konjugiert sind, zugegeben. Diese enzymmarkierten Antikörper bilden Komplexe mit dem zuvor gebundenen Mandel Protein. Nach einem zweiten Waschschrift 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 Mandel Proteinkonzentration in der getesteten Probe ab; somit ist die Extinktion bei 450 nm ein Maß für die Mandel Proteinkonzentration in der Testprobe. Die Mandel Proteinkonzentration in der Testprobe kann von der Standardkurve extrapoliert, aus Standardreihen mit bekannter Konzentration konstruiert und angepasst werden, um die Probenverdünnung zu berücksichtigen.






Das 3M Mandel Protein ELISA Kit ist für den Gebrauch in einer Laborumgebung durch in der Labortechnik ausgebildete Fachleute bestimmt. 3M verfügt über keine Daten zur Anwendung dieses Produkts in anderen Industrien als der Lebensmittel- und Getränkeindustrie. Zum Beispiel verfügt 3M über keine Daten zur Verwendung dieses Produkts mit Pharmazeutika-, Kosmetika- oder klinischen und tiermedizinischen Proben. Das 3M Mandel Protein ELISA Kit wurde nicht mit allen möglichen Lebensmittelprodukten, Lebensmittelprozessen und Testprotokollen geprüft.

Das 3M Mandel 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 |
|---|---|--|--|--|
| 3M™ Mandel 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. |
| 3M™ Mandel 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. |
| 3M™ Mandel Protein Standardkonzentrat  | Eine Ampulle mit bekannter Mandel Proteinkonzentration. | Siehe Abschnitt „ELISA-Verfahren“ für Informationen zur Standardvorbereitung. | 2-8 °C. Nicht einfrieren. | Das 3M Mandel Protein Standardkonzentrat ist bis zum Verfalldatum des Sets stabil. |



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

Nicht im Lieferumfang des Sets enthaltenes Material:

- 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 3M Mandel 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 Laborpraktiken¹ oder ISO 17025².



- Befolgen Sie immer die Standardsicherheitsmaßnahmen im Labor, einschließlich das Tragen angemessener Schutzkleidung und eines Augenschutzes beim Umgang mit Reagenzien.
- Vermeiden Sie Hautkontakt mit der 3M 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 3M Mandel Protein ELISA Kit wie auf der Packung und in den Produktanweisungen angegeben.
- Verwenden Sie das 3M Mandel 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 den Produktanweisungen angegeben durch.
- 3M verfügt über keine Daten zur Anwendung des 3M Mandel Protein ELISA Kits in anderen Industrien als der Lebensmittel- und Getränkeindustrie. Zum Beispiel verfügt 3M 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 3M Mandel Protein ELISA Kit immer vor Ablauf des Verfalldatums.
- Bereiten Sie Arbeitslösungen mit den konzentrierten Reagenzien des 3M Mandel Protein ELISA Kits immer bei 20-25 °C zu.
- Frieren Sie das 3M Mandel Protein Standardkonzentrat nicht ein.
- Verwenden Sie die chromogene Substratlösung nicht, wenn sie blau gefärbt ist. Befolgen Sie die guten Laborpraktiken¹, um eine Kreuzkontamination der 3M chromogenen Substratlösung zu vermeiden.

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 3M Mandel Protein Standardreihen gemäß den guten Laborpraktiken¹, 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.3M.com/foodsafety oder wenden Sie sich an den lokalen 3M-Verkaufsvertreter oder Händler.

Verantwortung des Anwenders

Anwender müssen sich auf eigene Verantwortung mit den Gebrauchsanweisungen und Informationen des Produkts vertraut machen. Für weitere Informationen, besuchen Sie unsere Website unter www.3M.com/foodsafety oder wenden Sie sich an Ihren lokalen 3M 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 Probenahme, Testprotokoll, 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 Benutzer, eine ausreichende Anzahl an Proben auszuwerten, um zu bestätigen, dass die ausgewählte Testmethode die Kriterien des Benutzers erfüllt.

Der Anwender trägt ebenfalls die Verantwortung dafür, dass die angewendeten Testmethoden und Ergebnisse den Anforderungen seiner Kunden und Lieferanten entsprechen.

Wie bei allen Testmethoden, stellen die mit 3M 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 3M ALLE AUSDRÜCKLICHEN UND STILLSCHWEIGENDEN GARANTIE, EINSCHLIESSLICH, JEDOCH NICHT BESCHRÄNKT AUF, DIE GEWÄHRLEISTUNG DER MARKTGÄNGIGKEIT ODER DER EIGNUNG FÜR EINEN BESTIMMTEN ZWECK AB.

Sollte sich ein 3M Lebensmittelsicherheitsprodukt als defekt herausstellen, wird es von 3M oder einem autorisierten Vertragshändler nach eigenem Ermessen ersetzt oder der Kaufpreis wird zurückerstattet. Gewährleistungsansprüche bestehen nicht. Sie sind verpflichtet, 3M umgehend innerhalb von sechzig Tagen, nachdem die mutmaßlichen Defekte

am Produkt festgestellt wurden, davon zu informieren und das Produkt an 3M zurückzusenden. Bitte rufen Sie zwecks „Verfahren der Warenrückgabe“ den Kundendienst (1-800-328-1671 in den USA) oder Ihren autorisierten Vertreter für 3M Lebensmittelsicherheitsprodukte an.

Haftungsbeschränkungen

3M 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 3M den Kaufpreis des angeblich defekten Produkts.

Lagerung und Entsorgung

Bewahren Sie die Komponenten des 3M Mandel Protein ELISA Kits bei 2-8 °C auf. Nicht einfrieren. Bewahren Sie verdünnte Arbeitslösungen wie in Tabelle 1 beschrieben auf.

Die Komponenten des 3M Mandel Protein ELISA Kit 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. 3M Extraktionslösung

Um 1x Extraktionslösung herzustellen, fügen Sie einen Teil 3M 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. 3M Verdünnungslösung

Um 1x Verdünnungslösung herzustellen, fügen Sie einen Teil 3M 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. 3M Waschlösung

Um 1x Waschlösung herzustellen, fügen Sie einen Teil 3M Waschlösung (20x) hinzu und verdünnen Sie sie mit 19 Teilen entionisiertem oder destilliertem Wasser. Für jede 3M ELISA-Mikrotiterplatte werden etwa 2,5 ml 1x Waschlösung benötigt.

Hinweis: Wenn die 3M Waschlösung (20x) bei 2-8 °C gelagert wird, kann es zur Bildung von Kristallen kommen. Um Kristalle aufzulösen, erwärmen Sie die 3M Waschlösung (20x) vor der Herstellung der Waschlösung (1x) in einem Wasserbad oder einem Inkubator auf 30 bis 35 °C.

d. 3M Mandel HRP-Konjugat

Um 1x Mandel HRP-Konjugat herzustellen, fügen Sie einen Teil 3M Mandel HRP-Konjugat (10x) hinzu und verdünnen Sie es mit 9 Teilen 1x Verdünnungslösung. Erst kurz vor Gebrauch zubereiten. Für jede 3M ELISA-Mikrotiterplatte werden 100 µl 1x Mandel HRP-Konjugat benötigt.

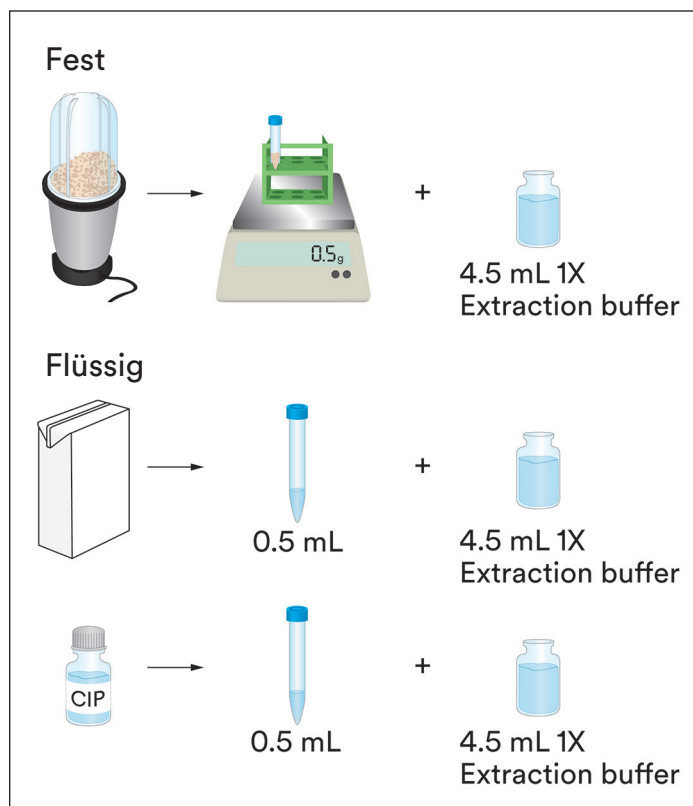
Vorbereiten der Probe

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

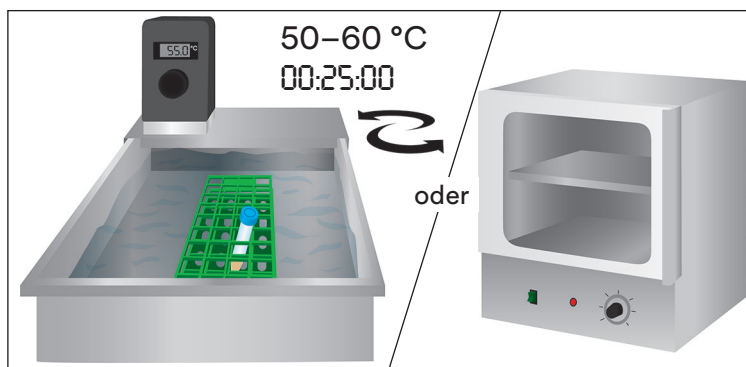
- 1.1 Bereiten Sie die Probe für die Proteinextraktion in einem sauberen Teströhrchen oder einem Einwegröhrchen wie in Tabelle 2 beschrieben vor.

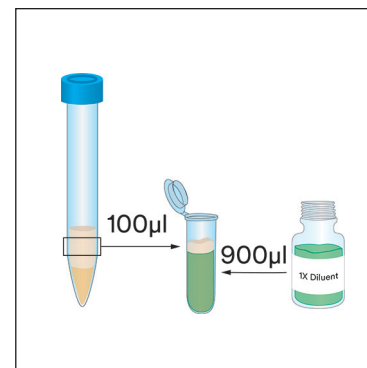
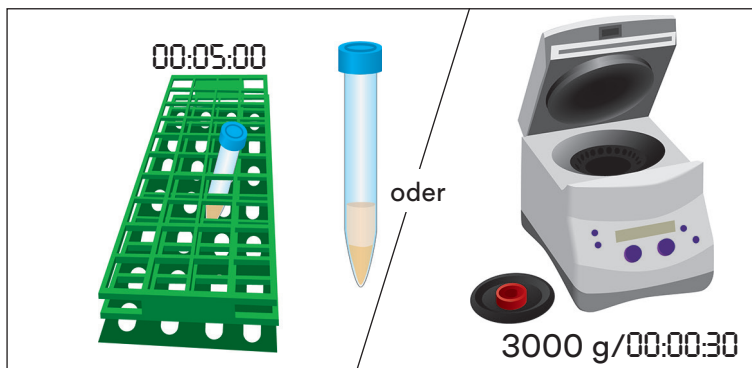
Tabelle 2. Vorbereiten der Probe

| Probenmatrix | Probengröße | Verdünnung (1/10) |
|---------------------------------|-------------------|--|
| Feste Lebensmittel | $0,5 \pm 0,02$ g | Fügen Sie $4,5 \pm 0,09$ ml vorgewärmte 1x Extraktionslösung hinzu |
| Flüssige Lebensmittel | $0,5 \pm 0,01$ ml | Fügen Sie $4,5 \pm 0,09$ ml vorgewärmte 1x Extraktionslösung hinzu |
| Clean-in-Place-Spülwasser (CIP) | $0,5 \pm 0,01$ ml | Fügen Sie $4,5 \pm 0,09$ 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 ($3000 \times g$) 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.)





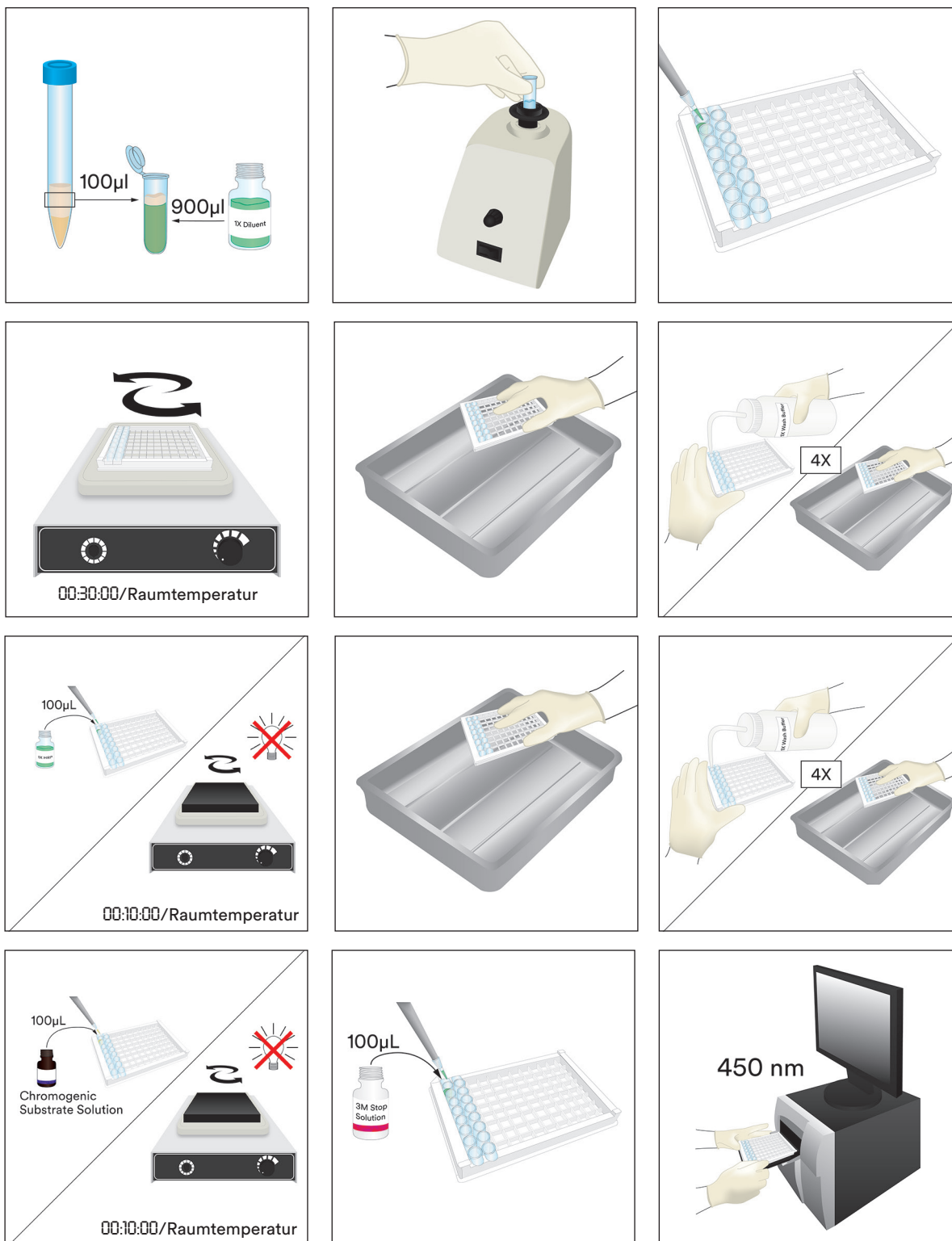
ELISA-Verfahren

- 2.1 Entnehmen Sie eine 3M ELISA-Mikrotiterplatte pro Probe und/oder Standardreihe und stellen Sie die Tests in den Mikrotiterplattenhalter. Geben Sie die unbenutzten 3M 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 3M™ Mandel 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 3M Mandel 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 3M 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 3M ELISA-Mikrotiterplatte.
- 2.5 Inkubieren Sie 3M 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 waagrecht, um eine Verdunstung zu verhindern.
- 2.6 Aspirieren Sie nach der Inkubation den Inhalt der 3M ELISA-Mikrotiterplatten.
- 2.7 Befüllen Sie jede 3M 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 Mandel HRP-Konjugat in jede 3M 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 waagrecht.
- 2.9 Wiederholen Sie die Schritte 2.6 und 2.7, um insgesamt vier Wäschen mit Waschlösung (1x) durchzuführen.
- 2.10 Übertragen Sie mit einer Pipette 100 µl 3M chromogene Substratlösung (TMB) in jede 3M 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 waagrecht.

2.12 Geben Sie nach der Inkubation 100 μ l 3M Stopplösung in jede 3M 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 $200 \text{ ng/ml} \times 100 = 20.000 \text{ ng/ml (ppb)}$, was 20 µg/ml (ppm) ist.

Mindestanforderungen

- a. Die Nachweisgrenze liegt bei 1,9 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 kann³. 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 kann³.

Präzision

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

Spezifität und Kreuzreaktivität

Dieser Test erkennt Mandel Protein und wurde mit verschiedenen Proben auf Kreuzreaktivität getestet (Tabelle 3).

Tabelle 3. Kreuzreaktivität des 3M Mandel Protein ELISA Kits.

| Matrixprobe | % Kreuzreaktivität |
|-------------------|--------------------|
| Mandelmehl | (+) |
| Mandelmilch | (+) |
| BLG | <1 % |
| Rindercasein | <1 % |
| Kuhmilch | <1 % |
| Paranuss | <1 % |
| Buchweizenmehl | <1 % |
| Cashewnuss | <1 % |
| Sellerie | <1 % |
| Kichererbse | <1 % |
| Kokosnussmehl | <1 % |
| Kokosmilch | <1 % |
| Maismehl | <1 % |
| Fisch-Parvalbumin | <1 % |
| Haselnuss | <1 % |
| Limabohne | <1 % |
| Macadamianuss | <1 % |
| Senfsamen | <1 % |
| Ovomucoid | <1 % |
| Erbsenextrakt | <1 % |

| | |
|-------------------|------|
| Erdnussmehl | <1 % |
| Pekannuss | <1 % |
| Pinienkern | <1 % |
| Pistazienmehl | <1 % |
| Kürbissamen | <1 % |
| Jakobsmuschel | <1 % |
| Sesamsamen | <1 % |
| Garnele | <1 % |
| Sorghum-Mehl | <1 % |
| Sojamehl | <1 % |
| Sojamilch | <1 % |
| Sonnenblumenkerne | <1 % |
| Walnuss | <1 % |

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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

Istruzioni sul prodotto

Kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mandorla

Saggio di immunoassorbimento enzimatico (ELISA) per l'analisi quantitativa delle proteine di mandorla.

Descrizione del prodotto e uso previsto




Il kit ELISA 3M™ per la rilevazione delle proteine di mandorla è indicato per la rilevazione delle proteine di mandorla 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 mandorla 3M utilizza un ELISA a sandwich. Le proteine di mandorla presenti nel campione reagiscono con l'anticorpo anti-mandorla, 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-mandorla coniugati a perossidasi del rafano (HRP). Questi anticorpi enzimatici formano complessi con la proteina di mandorla precedentemente legata. In seguito a una seconda fase di lavaggio, l'enzima legato all'immunoassorbente 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 mandorla nel campione testato; pertanto, l'assorbanza, a 450 nm, è una misura della concentrazione di proteina di mandorla nel campione di test. La quantità di proteina di mandorla 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 mandorla 3M deve essere utilizzato in laboratorio da professionisti che conoscono le tecniche di laboratorio. 3M non ha documentato l'utilizzo del presente prodotto in settori diversi da quello alimentare e delle bevande. Ad esempio, 3M 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 mandorla 3M 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 mandorla 3M 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 3M™ per la rilevazione delle proteine di mandorla  | 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 mandorla 3M™ (10X)  | Una fiala contenente 1,5 ml di anticorpo coniugato a perossidasi del rafano (HRP) (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 mandorla 3M™  | Una fiala contenente una concentrazione di proteina di mandorla nota. | Fare riferimento alla sezione Procedura ELISA per la preparazione standard. | 2-8 °C. Non congelare. | Il concentrato standard di proteine di mandorla 3M è stabile fino alla data di scadenza del kit. |



| | | | | |
|---|---|--|---|--|
| Diluente 3M™ (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 | Il tampone di diluente 3M 5X è stabile fino alla data di scadenza del kit. |
| Soluzione di lavaggio 3M™ (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 3M 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 3M™ 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 3M 4X. | Il tampone di estrazione 1X e il tampone di estrazione 3M 4X sono stabili fino alla data di scadenza del kit. |
| Soluzione di substrato cromogenico 3M™  | 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 3M è stabile fino alla data di scadenza del kit. |
| Soluzione di arresto 3M™  | Un flacone contenente 12 ml di acido solforico da 0,3 M. | Pronto all'uso. | 2-8 °C | La soluzione di arresto 3M 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 mandorla 3M. 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 laboratorio¹ o la norma ISO 17025².
- 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 3M; 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 mandorla 3M come indicato sulla confezione e nelle istruzioni sul prodotto.
- Utilizzare il kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mandorla 3M 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 del prodotto.
- 3M non ha documentato l'utilizzo del kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mandorla 3M in settori diversi da quello alimentare e delle bevande. Ad esempio, 3M 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 mandorla 3M entro la data di scadenza.
- Preparare sempre le soluzioni di lavoro utilizzando i reagenti concentrati del kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mandorla 3M a una temperatura di 20-25 °C.
- Non congelare il concentrato standard di proteine di mandorla 3M.
- Se la soluzione di substrato cromogenico diventa di colore blu, non utilizzarla. Attenersi alle corrette procedure di laboratorio¹ per evitare la contaminazione crociata della soluzione di substrato cromogenico 3M.

AVVISO

Per ridurre i rischi associati a risultati inaccurati:

- 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 mandorla 3M nel rispetto delle corrette procedure di laboratorio¹ 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.3M.com/foodsafety o contattare il distributore o il rappresentante 3M di zona.

Responsabilità Dell'Utente

Gli utenti sono tenuti a leggere e apprendere le istruzioni e le informazioni relative al prodotto. Visitare il nostro sito web all'indirizzo www.3M.com/foodsafety, oppure contattare il distributore locale o rappresentante commerciale 3M 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 determinare che tutti i metodi di analisi utilizzati e i risultati ottenuti soddisfino i requisiti dei propri clienti o fornitori.

Come per qualsiasi metodo di analisi, i risultati ottenuti grazie all'uso di prodotti di 3M Sicurezza alimentare 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, 3M NON RICONOSCE ALCUNA GARANZIA ESPLICITA O IMPLICITA, INCLUSE,

MA NON A ESSE LIMITATE, LE EVENTUALI GARANZIE DI COMMERCIALIZZABILITÀ O DI IDONEITÀ A UNO SCOPO PARTICOLARE. Qualora un prodotto 3M Sicurezza alimentare sia difettoso, 3M 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. Si dovrà avvisare immediatamente 3M entro sessanta giorni dal riscontro di eventuali difetti sospetti nel prodotto, provvedendo a rispedirlo a 3M. Chiamare il servizio clienti (negli USA: 1-800-328-1671) o rivolgersi al rappresentante autorizzato dei prodotti Sicurezza alimentare 3M per ottenere l'autorizzazione alla restituzione del prodotto.

Limitazione di Responsabilità da Parte di 3M

3M NON SARÀ RESPONSABILE DI PERDITE O DANNI, DIRETTI, INDIRETTI, SPECIALI, INCIDENTALI O CONSEGUENTI, INCLUSA, MA NON IN VIA LIMITATIVA, LA PERDITA DI PROFITTO. In nessun caso la responsabilità legale di 3M 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 mandorla 3M 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 mandorla 3M 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 3M

Per preparare il tampone di estrazione 1X, aggiungere una parte di tampone di estrazione 3M (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 3M

Per preparare la soluzione diluente 1X, aggiungere una parte di diluente 3M (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 3M

Per preparare la soluzione di lavaggio 1X, aggiungere una parte di soluzione di lavaggio 3M (20X) a 19 parti di acqua deionizzata o distillata. Ciascun pozzetto ELISA 3M richiede circa 2,5 ml di soluzione di lavaggio 1X.

Nota: quando la soluzione di lavaggio 3M (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 3M (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 mandorla 3M

Per preparare il coniugato HRP di mandorla 1X, aggiungere una parte di coniugato HRP di mandorla 3M (10X) e diluirla in 9 parti di soluzione diluente 1X. Preparare subito prima dell'uso. Ciascun pozzetto ELISA 3M richiede 100 µl di coniugato HRP di mandorla 1X.

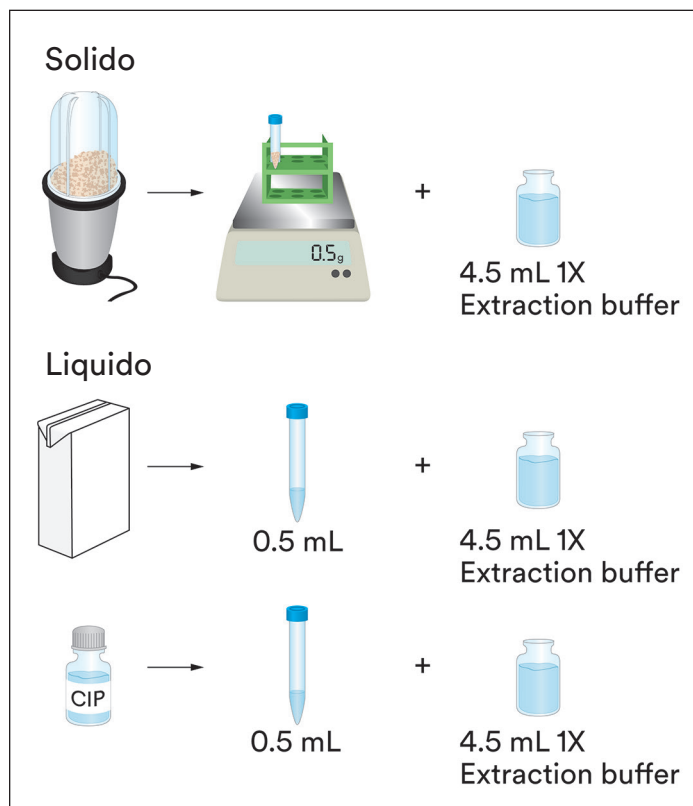
Preparazione del campione

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

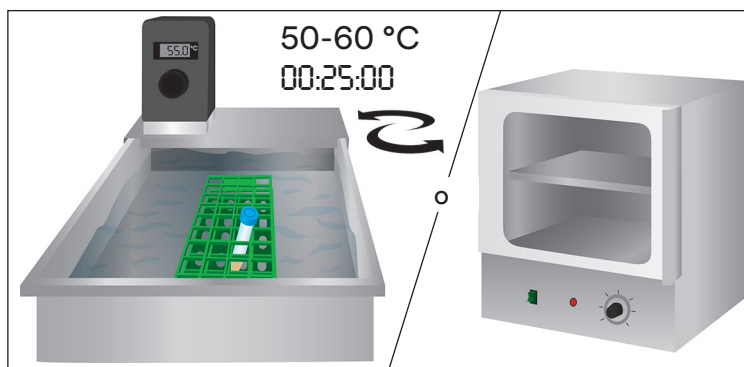
- 1.1 Preparare il campione per l'estrazione delle proteine in una provetta da test pulita o in una provetta monouso, come descritto nella Tabella 2.

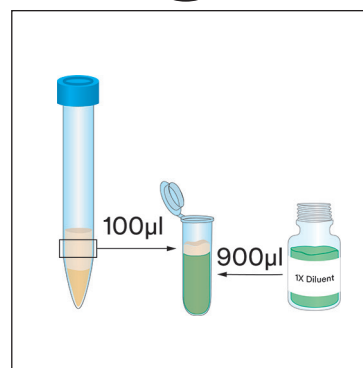
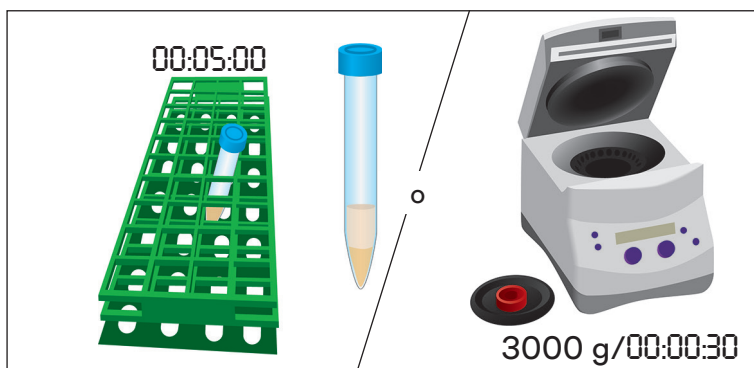
Tabella 2. Preparazione del campione

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



- 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 minuti. 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 ($3000 \times g$) per 20-30 secondi in particelle circolari o lasciarli riposare per 5 minuti in una rastrelliera di provette da test.
- 1.4 Raccogliere 100 μ l di strato (acquoso) intermedio e aggiungerli a 900 μ l di tampone di 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 3M per campione e/o standard e posizionare i pozzetti nel portapozzetti. Riporre i pozzetti ELISA 3M nel sacchetto d'alluminio, quindi risigillare quest'ultimo e conservarlo nuovamente a 2-8 °C.
- 2.2 Utilizzando il concentrato standard di proteine di mandorla 3M™, preparare un set di quattro standard diluiti nel tampone 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 mandorla 3M | 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 3M.

- Standard 0 (tampone di 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 3M.

- 2.5 Incubare pozzetti ELISA 3M 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 3M.

- 2.7 Riempire completamente ciascun pozzetto ELISA 3M 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.

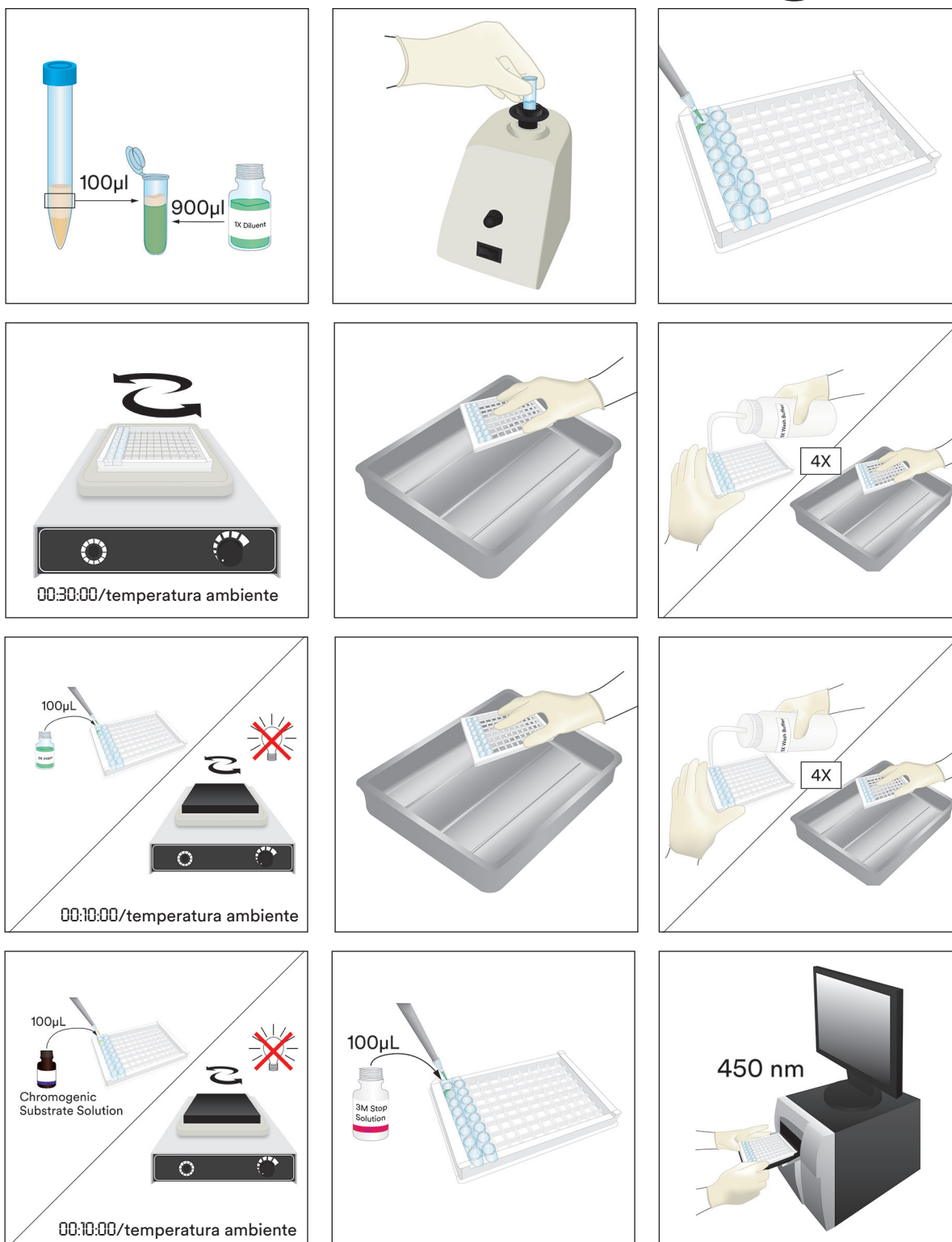
- 2.8 Pipettare 100 µl di coniugato HRP di mandorla 1X in ciascun pozzetto ELISA 3M. Incubare su un set di agitatori orbitali a 400 rpm a temperatura ambiente per 10 ± 2 minuti. Durante questa fase, mantenere la piastra coperta al riparo dalla luce e in posizione diritta.

- 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 3M (TMB) in ciascun pozzetto ELISA 3M.

- 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 3M a ciascun pozzetto ELISA 3M 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, per 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 $200 \text{ ng/ml} \times 100 = 20.000 \text{ ng/ml}$ (ppb), ossia 20 µg/ml (ppm).

Caratteristiche prestazionali minime

- a. Il limite di rilevazione (LOD) è 1,9 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 specificato³. 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 specificato³.

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 |

Specificità e reattività crociata

Questo dosaggio riconosce la proteina della mandorla ed è stato testato prendendo come riferimento diversi campioni per la valutazione della reattività crociata (Tabella 3).

Tabella 3. Reattività crociata del kit ELISA per la rilevazione delle proteine di mandorla 3M.

| Campione matrice | % di reattività crociata |
|--------------------------|--------------------------|
| Farina di mandorle | (+) |
| Latte di mandorla | (+) |
| BLG | <1% |
| Caseina bovina | <1% |
| Latte bovino | <1% |
| Noce brasiliana | <1% |
| Farina di grano saraceno | <1% |
| Anacardo | <1% |
| Sedano | <1% |
| Cece | <1% |
| Farina di cocco | <1% |
| Latte di cocco | <1% |
| Farina di mais | <1% |
| Parvalbumina del pesce | <1% |
| Nocciola | <1% |
| Fagiolo di Lima | <1% |
| Noce macadamia | <1% |
| Seme di senape | <1% |
| Ovomucoide | <1% |
| Estratto di piselli | <1% |
| Farina di arachidi | <1% |
| Noce pecan | <1% |

| | |
|----------------------|-----|
| Pinolo | <1% |
| Farina di pistacchio | <1% |
| Seme di zucca | <1% |
| Capasanta | <1% |
| Seme di sesamo | <1% |
| Gambero | <1% |
| Farina di sorgo | <1% |
| Farina di soia | <1% |
| Latte di soia | <1% |
| Seme di girasole | <1% |
| Noce | <1% |

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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

Instrucciones del Producto

Kit ELISA para Proteína de Almendra

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

Descripción del producto y uso previsto



El Kit ELISA para Proteína de Almendra 3M™ está diseñado para la detección de proteínas de almendra 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 Almendra 3M usa una prueba ELISA sándwich. Las proteínas de almendra presentes en la muestra reaccionan con el anticuerpo anti-almendra, 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-almendra conjugados con peroxidasa de rábano (HRP, por sus siglas en inglés). Estos anticuerpos marcados con enzimas forman complejos con la proteína de almendra 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 almendra en la muestra analizada. Por consiguiente, la absorbancia, a 450 nm, indica la concentración de proteína de almendra en la muestra de prueba. La cantidad de proteína de almendra 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 Almendra 3M está previsto para su uso en laboratorios por profesionales capacitados en el empleo de técnicas de laboratorio. 3M no documentó el uso de este producto en otras industrias que no sean la alimentaria o la de bebidas. Por ejemplo, 3M no documentó este producto para el análisis de muestras clínicas, veterinarias, cosméticas o farmacéuticas. No se evaluó el Kit ELISA para Proteína de Almendra 3M con todos los posibles productos alimenticios, procesos de alimentos y protocolos de prueba.

El Kit ELISA para Proteína de Almendra 3M 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 |
|---|--|---|---|--|
| 3M™ Pocillos del Kit ELISA para Proteína de Almendra  | 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. |
| 3M™ Conjugado de Almendra HRP  | 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. |



| | | | | |
|--|---|--|---|---|
| <p>Concentrado Estándar de Proteína de Almendra 3M™</p>  | <p>Un vial con una concentración conocida de proteína de almendra.</p> | <p>Consulte la Sección del Procedimiento ELISA para conocer la preparación estándar.</p> | <p>Entre 2 °C y 8 °C. No lo congele.</p> | <p>El concentrado Estándar de Proteína de Almendra 3M es estable hasta la fecha de vencimiento del kit.</p> |
| <p>3M™ Diluyente (5X)</p>  | <p>Un frasco con 50 mL de Diluyente 5X.</p> | <p>Diluya en una proporción de 1/5 inmediatamente antes de usar para preparar una solución de trabajo 1X.</p> | <p>A una temperatura de entre 2 °C y 8 °C</p> | <p>La Solución Amortiguadora Diluyente 3M 5X es estable hasta la fecha de vencimiento del kit.</p> |
| <p>Solución de Lavado 3M™ (20X)</p>  | <p>Un frasco con 50 mL de Solución de Lavado 20X.</p> | <p>Diluya 1/20 para preparar una solución de trabajo 1X.</p> | <p>Entre 2 °C y 8 °C tanto para la solución de trabajo 1X como para el concentrado de la Solución de Lavado 20X.</p> | <p>La Solución de Lavado 3M 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.</p> |
| <p>3M™ Solución Amortiguadora de Extracción E26 (4X)</p>  | <p>Un frasco con 120 mL de solución amortiguadora de extracción 4X.</p> | <p>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.</p> | <p>Almacene tanto para la solución de trabajo 1X como el concentrado de la solución amortiguadora de extracción 3M 4X a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C.</p> | <p>La Solución Amortiguadora de Extracción 1X y la Solución Amortiguadora de Extracción 3M 4X son estables hasta la fecha de vencimiento del kit.</p> |
| <p>3M™ Solución de Sustrato Cromogénico</p>  | <p>Un frasco con 12 mL de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB).</p> | <p>Listo para usar.</p> | <p>A una temperatura de entre 2 °C y 8 °C en la oscuridad.</p> | <p>Proteja de la luz. La Solución de Sustrato Cromogénico 3M es estable hasta la fecha de vencimiento del kit.</p> |
| <p>3M™ Solución de Paro</p>  | <p>Un frasco de 12 mL de ácido sulfúrico 0.3 M.</p> | <p>Listo para usar.</p> | <p>A una temperatura de entre 2 °C y 8 °C</p> | <p>La Solución de Paro 3M es estable hasta la fecha de vencimiento del kit.</p> |

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 Almendra 3M. Guarde las instrucciones de seguridad para consulta 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 Laboratorio¹ o la norma ISO 17025².
- 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 Solución de Paro 3M 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 Almendra 3M como se indica en el embalaje y en las instrucciones del producto.
- Use el Kit ELISA para Proteína de Almendra 3M 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.
- 3M no documentó el uso del Kit ELISA para Proteína de Almendra 3M en otras industrias que no sean la alimentaria o la de bebidas. Por ejemplo, 3M 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 Almendra 3M antes de la fecha de vencimiento.
- Siempre prepare las soluciones de trabajo usando los reactivos concentrados del Kit ELISA para Proteína de Almendra 3M a una temperatura entre 20 °C y 25 °C.
- No congele el Concentrado Estándar de Proteína de Almendra 3M.
- Si la Solución del Sustrato Cromogénico se vuelve azul, no la use. Siga las Buenas Prácticas de Laboratorio¹ para evitar la contaminación cruzada de la Solución de Sustrato Cromogénico 3M.

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 Almendra 3M siguiendo las Buenas Prácticas de Laboratorio¹ 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.3M.com/foodsafety o comuníquese con su representante o distribuidor local de 3M.

Responsabilidad del Usuario

Los usuarios son responsables de familiarizarse con las instrucciones e información del producto. Visite nuestro sitio web en www.3M.com/foodsafety o póngase en contacto con su representante o distribuidor local de 3M 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 3M Food Safety no constituyen una garantía de calidad de las matrices ni de los procesos analizados.

Limitación de Garantías / Recurso Limitado

SALVO LO EXPRESAMENTE ESTIPULADO EN UNA SECCIÓN DE GARANTÍA LIMITADA O EN EL EMBALAJE DE UN PRODUCTO ESPECÍFICO, 3M 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 3M Food Safety es defectuoso, 3M o su distribuidor autorizado reemplazará el producto o reembolsará el precio de compra del producto, a su elección. Estos son sus recursos exclusivos. Deberá notificar inmediatamente a 3M en un lapso de sesenta días a partir del descubrimiento de cualquier sospecha de defecto en un producto y devolver dicho producto a 3M. Llame a Atención al Cliente (1-800-328-1671 en los EE. UU.) o a su representante oficial de 3M Food Safety para obtener una Autorización de devolución de productos.

Limitación de la Responsabilidad de 3M

3M 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 3M conforme a ninguna teoría legal excederá el precio de compra del producto supuestamente defectuoso.

Almacenamiento y desecho

Almacene todos los componentes del 3M Kit ELISA para Proteína de Almendra a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C. No lo congele. Almacene las soluciones de trabajo diluidas como se describe en la Tabla 1.

Los componentes del Kit ELISA para Proteína de Almendra 3M 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. 3M Solución Amortiguadora de Extracción

Para preparar una Solución Amortiguadora de Extracción 1X, añada una parte de 3M 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. 3M Solución Diluyente

Para preparar una Solución Diluyente 1X, añada una parte de 3M Diluyente (5X) a cuatro partes de agua desionizada o destilada. Cada muestra requiere un total de 4.5 mL de Solución Diluyente 1X.

c. 3M Solución de Lavado

Para preparar una Solución de Lavado 1X, añada una parte de 3M Solución de Lavado (20X) a 19 partes de agua desionizada o destilada. Cada pocillo 3M ELISA requiere aproximadamente 2.5 mL de Solución de Lavado 1X.

Nota: Se puede producir la formación de cristales en la 3M Solución de Lavado (20X) cuando se la almacena a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C. Para disolver los cristales, caliente la Solución de Lavado 3M (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. 3M™ Conjugado de Almendra HRP

Para preparar el Conjugado de Almendra HRP 1X, añada una parte del Conjugado de Almendra HRP 3M (10X) y dilúyalo en 9 partes de la Solución Diluyente 1X. Prepárelos inmediatamente antes de su uso. Cada Pocillo ELISA 3M requiere 100 µL de Conjugado de Almendra HRP 1X.

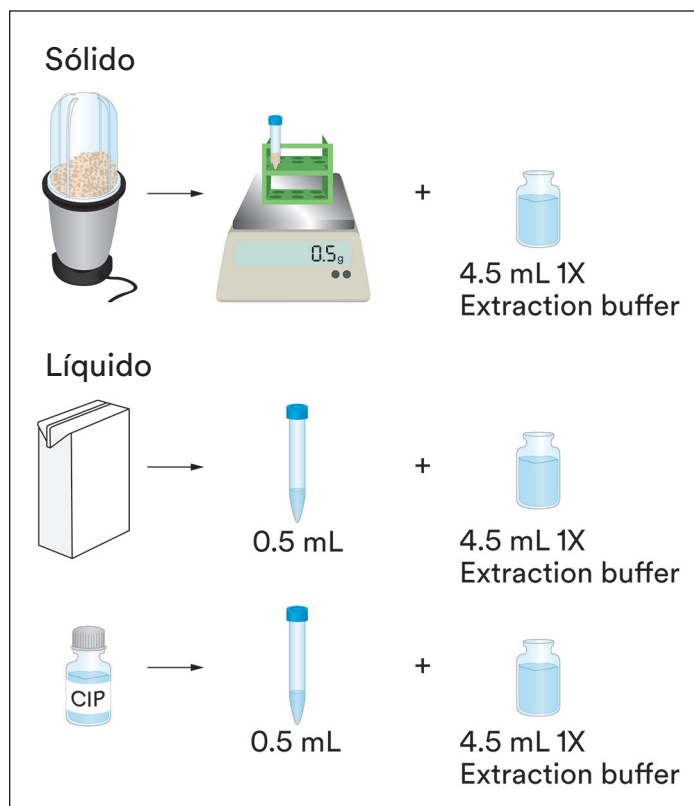
Preparación de la Muestra

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

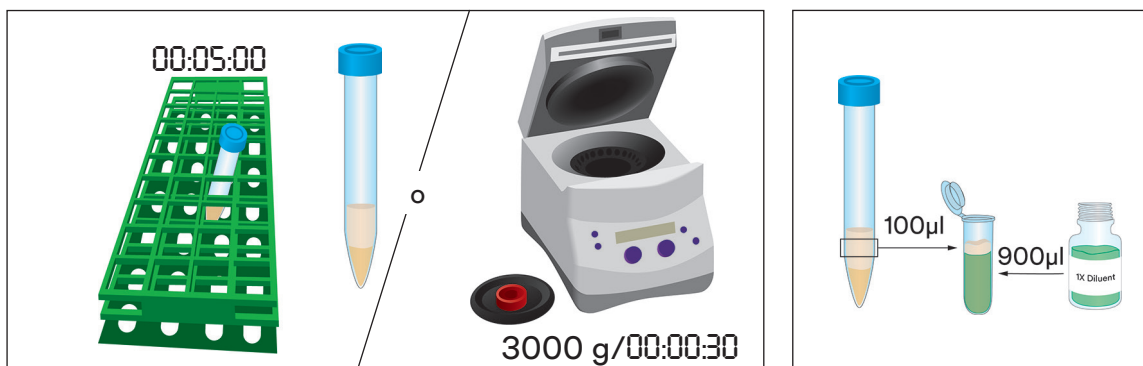
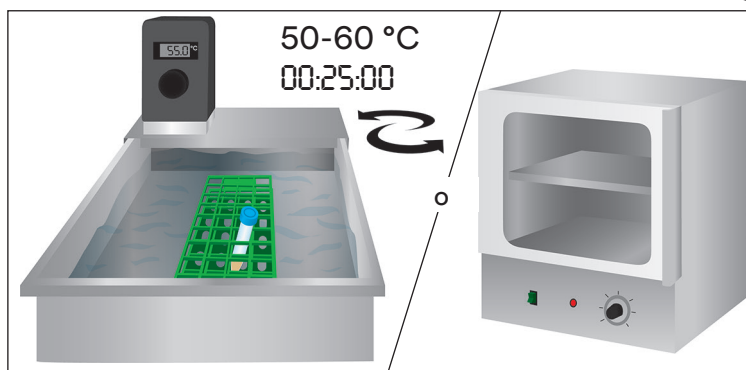
- 1.1 Prepare la muestra para la extracción de proteína en un tubo de ensayo limpio o en un tubo desechable, como se describe en la Tabla 2.

Tabla 2. Preparación de la muestra

| Matriz de la muestra | Tamaño de la muestra | Dilución (1/10) |
|---|----------------------|--|
| Alimentos sólidos | 0.5 g \pm 0.02 g | Añada 4.5 mL \pm 0.09 mL de Solución Amortiguadora de Extracción 1X precalentada |
| Alimentos líquidos | 0.5 mL \pm 0.01 mL | Añada 4.5 mL \pm 0.09 mL de Solución Amortiguadora de Extracción 1X precalentada |
| Agua de lavado final de la limpieza in situ (CIP) | 0.5 mL \pm 0.01 mL | Añada 4.5 mL \pm 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 \pm 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 μ L de la capa media (acuosa) y añádalos a 900 μ L de la Solución Amortiguadora 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 3M ELISA por muestra o estándar y coloque los pocillos en el soporte. Vuelva a colocar los Pocillos 3M 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 Almendra 3M™, prepare un conjunto de cuatro estándares diluidos en la Solución Amortiguadora 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 Almendra 3M™ | 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 3M ELISA.

- Estándar 0 (Solución Amortiguadora 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

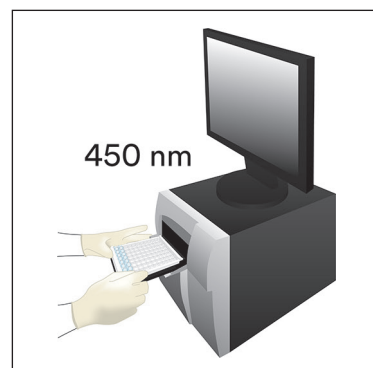
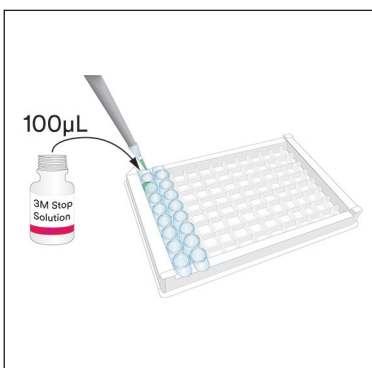
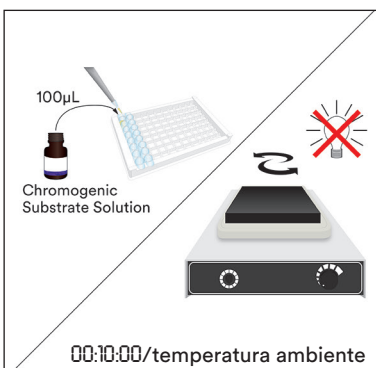
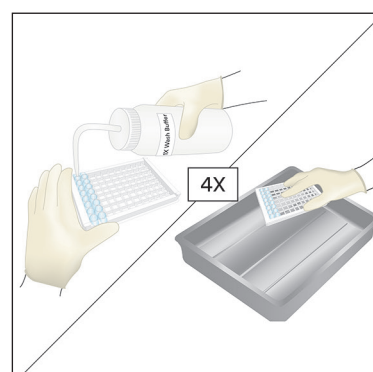
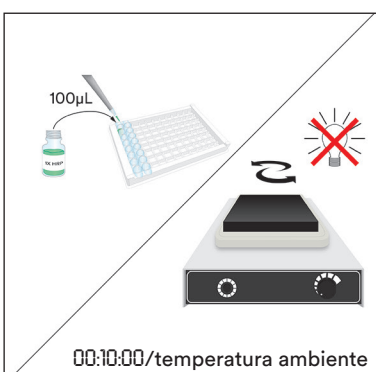
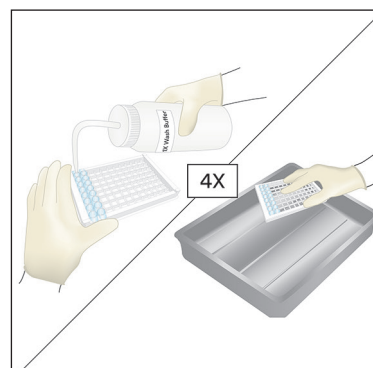
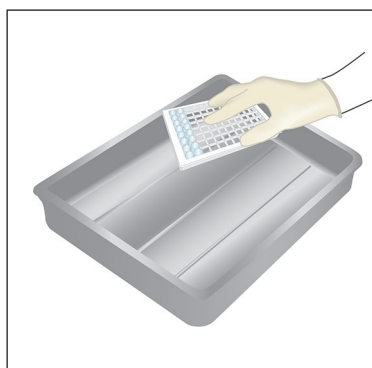
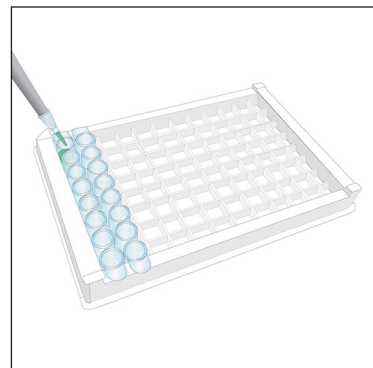
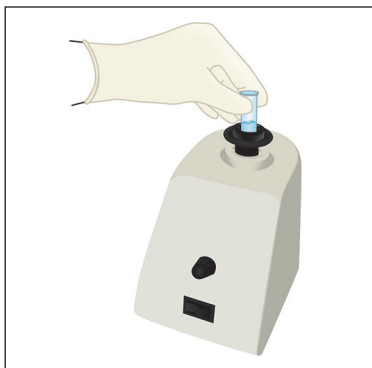
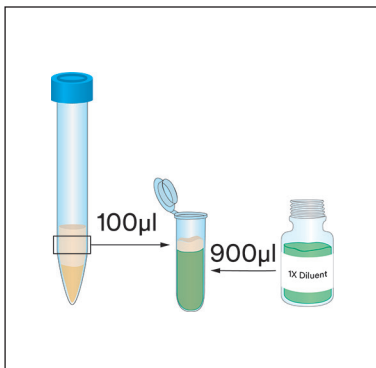
- 2.4 Pipetee 100 µL de la muestra extraída preparada en 1.4 en un Pocillo 3M ELISA.

- 2.5 Incube los pocillos 3M 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 3M ELISA.

- 2.7 Llene por completo cada Pocillo 3M 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 μ L de Conjugado de Almendra HRP 1X en cada Pocillo 3M ELISA. Incube en un agitador orbital configurado a 400 rpm a temperatura ambiente durante 10 minutos \pm 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 μ L de la Solución del Sustrato Cromogénico 3M (TMB) en cada Pocillo 3M 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 μ L de la Solución Quelante 3M en cada Pocillo 3M 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 $200 \text{ ng/mL} \times 100 = 20\,000 \text{ ng/mL (ppb)}$ que es $20 \text{ } \mu\text{g/mL (ppm)}$.

Características Mínimas de Rendimiento

- a. El Límite de Detección (LOD, por sus siglas en inglés) es 1,9 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 especificado³. 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 especificado³.

Precisión

| | | |
|-----------------------------|---------------------|------|
| Precisión dentro del ensayo | %CV promedio = <10% | N=12 |
| Precisión entre ensayos | %CV promedio = <10% | N=12 |

Especificidad y reactividad cruzada

Este ensayo reconoce la proteína de almendra y se lo analizó en comparación con varias muestras para establecer la reactividad cruzada (Tabla 3).

Tabla 3. Reactividad cruzada del Kit ELISA para Proteína de Almendra 3M.

| Muestra de la matriz | % de reactividad cruzada |
|---------------------------|--------------------------|
| Harina de almendra | (+) |
| Leche de almendra | (+) |
| BLG | <1 % |
| Caseína bovina | <1 % |
| Leche bovina | <1 % |
| Nuez de Brasil | <1 % |
| Harina de trigo sarraceno | <1 % |
| Anacardo/castaña de cajú | <1 % |
| Apio | <1 % |
| Garbanzo | <1 % |
| Harina de coco | <1 % |
| Leche de coco | <1 % |
| Harina de maíz | <1 % |
| Parvalbúmina de pescado | <1 % |
| Avellana | <1 % |
| Frijoles de Lima | <1 % |
| Nuez de Macadamia | <1 % |



| | |
|-----------------------|------|
| Semilla de mostaza | <1 % |
| Ovomucoide | <1 % |
| Extracto de guisantes | <1 % |
| Harina de maní | <1 % |
| Pacana | <1 % |
| Piñón | <1 % |
| Harina de pistacho | <1 % |
| Semilla de calabaza | <1 % |
| Vieiras | <1 % |
| Semilla de sésamo | <1 % |
| Camarón | <1 % |
| Harina de sorgo | <1 % |
| Harina de soja | <1 % |
| Leche de soja | <1 % |
| Semilla de girasol | <1 % |
| Nuez | <1 % |

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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

Productinstructies

Amandel Proteïne ELISA test

Enzymgekoppeld immunosorbent-assay (ELIZA) voor de kwantitatieve analyse van amandelproteïne.

Productbeschrijving en beoogd gebruik

De 3M™ Amandel Proteïne ELISA test is bedoeld voor de detectie van amandelproteïne in CIP-water ('clean-in-place') van de laatste spoeling, omgevingsmonsters, voedingsingrediënten en verwerkte voedingsmiddelen.

De 3M Amandel Proteïne ELISA test maakt gebruik van een sandwich-ELISA. De aanwezige amandelproteïne in het monster reageert met het anti-amandel antilichaam, dat geadsorbeerd is aan het oppervlak van wells in een polystyreen microtiterplaat. Nadat ongebonden proteïne is verwijderd door middel van wassen, worden anti-amandel antilichamen geconjugeerd met mierikswortelperoxidase (HRP – 'horseradish peroxidase') toegevoegd. Deze met enzymen gelabelde antilichamen vormen complexen met de eerder gebonden amandelproteïne. 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 amandelproteïne in het geteste monster; daarom is de absorptie, bij 450 nm, een meting voor de concentratie van amandelproteïne in het testmonster. De kwantiteit van amandelproteïne 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 3M Amandel Proteïne ELISA test is bedoeld voor gebruik in een laboratoriumomgeving door professionals geschoold in laboratoriumtechnieken. 3M heeft het gebruik van dit product niet gedocumenteerd in andere sectoren dan de voedings- of dranksector. 3M heeft dit product bijvoorbeeld niet gedocumenteerd voor het testen van farmaceutische, cosmetische, klinische of veterinaire monsters. De 3M Amandel Proteïne ELISA test is niet getest met alle voorkomende voedingsproducten, voedingsprocessen en testprotocollen.

De 3M Amandel Proteïne ELISA test bevat 96 wells, die zijn beschreven in Tabel 1.

Tabel 1. Setonderdelen

| Artikel | Identificatie | Vorbereiding (raadpleeg het onderdeel 'De reagentia vorbereiden' voor details) | Opslag | Stabiliteit |
|--|---|--|---|--|
| 3M™ Amandel 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. |
| 3M™ Amandel 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. |



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

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 3M Amandel 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 deze niet wordt vermeden, kan leiden tot 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 laboratoriumpraktijken¹ of ISO 17025².
- 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 3M 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 3M Amandel Proteïne ELISA test zoals aangegeven wordt op de verpakking en in de productinstructies.
- Gebruik de 3M Amandel Proteïne ELISA test voor voedings- en omgevingsmonsters die intern of door een derde partij zijn gevalideerd.
- Volg het protocol en voer de tests exact uit zoals aangegeven in de productinstructies.
- 3M heeft het gebruik van de 3M Amandel Proteïne ELISA test niet gedocumenteerd in andere sectoren dan de voedings- en drankensector. 3M heeft dit product bijvoorbeeld niet gedocumenteerd voor het testen van 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 3M Amandel Proteïne ELISA test altijd vóór de vervaldatum.
- Bereid de werkzame oplossingen met behulp van de geconcentreerde reagentia van de 3M Amandel Proteïne ELISA test altijd bij een temperatuur van 20-25 °C.
- Vries het 3M Amandel Proteïne Standaardconcentraat niet in.
- Gebruik de chromogene substraatoplossing niet als deze blauw kleurt. Volg de Goede laboratoriumpraktijken¹ om kruisbesmetting van de 3M Chromogene substraatoplossing te voorkomen.

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 3M Amandel Proteïne Standaarden volgens Goede laboratoriumpraktijken¹ om kruisbesmetting van monsters te voorkomen.

Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad voor bijkomende informatie.

Voor informatie over documentatie van productprestaties kunt u onze website bezoeken via www.3M.com/foodsafety of contact opnemen met uw plaatselijke 3M-vertegenwoordiger of -distributeur.

Verantwoordelijkheid van de Gebruiker

Gebruikers worden geacht zich vertrouwd te maken met de productinstructies en -informatie. Bezoek onze website www.3M.com/foodsafety, of neem contact op met uw plaatselijke 3M-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 voldoen aan de vereisten van klanten en leveranciers.

Zoals bij elke testmethode, garanderen de verkregen resultaten van het gebruik van een 3M Voedselveiligheidsproduct de kwaliteit van de geteste matrices of processen niet.

Beperkte Garantie / Beperkte Verhaal

BEHALVE WAAR UITDRUKKELIJK VERMELD IN EEN BEPERKTE GARANTIEBEPALING VAN EEN INDIVIDUELE PRODUCTVERPAKKING, WIJST 3M ALLE UITDRUKKELIJKE EN IMPLICIETE GARANTIES AF, MET INBEGRIIP VAN, MAAR NIET BEPERKT TOT, ELKE GARANTIE MET BETREKKING TOT DE GOEDE WERKING EN DE GESCHIKTHEID VOOR EEN BEPAALD DOEL. Als een 3M Voedselveiligheidsproduct gebrekkig is, zal 3M 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. Indien u vermoedt dat een product gebrekkig is, dan moet u 3M daarvan binnen de 60 dagen na het vaststellen op de hoogte brengen. Bel onze klantenservice (+31 (0)71 5450 342 of +32 (0)2 722 5224) of uw erkende vertegenwoordiger van 3M Voedselveiligheidsproducten, voor een autorisatie voor het retourneren van de goederen.

Beperking van Aansprakelijkheid

3M IS NIET AANSPRAKELIJK VOOR ENIG VERLIES OF SCHADE, ONGEACHT OF HET GAAT OM RECHTSTREEKSE, ONRECHTSTREEKSE, SPECIALE, INCIDENTELE OF GEVOLGSCHADE, MET INBEGRIIP VAN, MAAR NIET BEPERKT TOT WINSTDERVING. In geen geval zal de wettelijke aansprakelijkheid van 3M onder om het even welke juridische theorie de aankoopprijs van het zogenaamd gebrekkige product overschrijden.

Opslag en afvalverwerking

Bewaar de inhoud van de 3M Amandel Proteïne ELISA test bij 2-8 °C. Niet invriezen. Bewaar verdunde werkzame oplossingen zoals beschreven in Tabel 1.

De onderdelen van de 3M Amandel 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. 3M Extractiebuffer

Om de 1X extractiebuffer te bereiden, voegt u één deel van de 3M 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. 3M Verdunningsoplossing

Om de 1X verdunningsoplossing te bereiden, voegt u één deel van het 3M Verdunningsmiddel (5X) toe aan vier delen gedeïoniseerd of gedestilleerd water. Elk monster vereist totaal 4,5 ml van het 1X verdunningsmiddel.

c. 3M Wasoplossing

Om de 1X wasoplossing te bereiden, voegt u één deel van het 3M Wasoplossing (20X) toe aan 19 delen gedeïoniseerd of gedestilleerd water. Elke 3M ELISA well vereist ongeveer 2,5 ml 1X wasoplossing.

Opmerking: Wanneer de 3M 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 3M Wasoplossing (20X) tot 30-35 °C in een waterbad of incubator voorafgaand aan de bereiding van de wasoplossing (1X).

d. 3M Amandel HRP-conjugaat

Om het 1X amandel HRP-conjugaat te bereiden, voegt u één deel van het 3M Amandel HRP-conjugaat (10X) toe aan 9 delen van de 1X verdunningsoplossing om te verdunnen. Bereid deze oplossing onmiddellijk voor gebruik. Elke 3M ELISA well vereist 100 µl van het 1X amandel HRP-conjugaat.

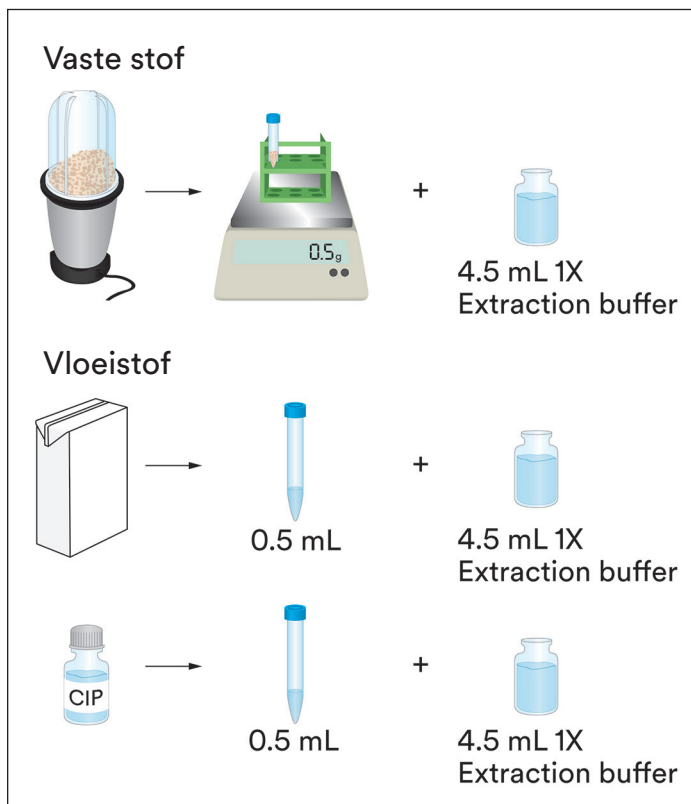
Voorbereiding monster

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.

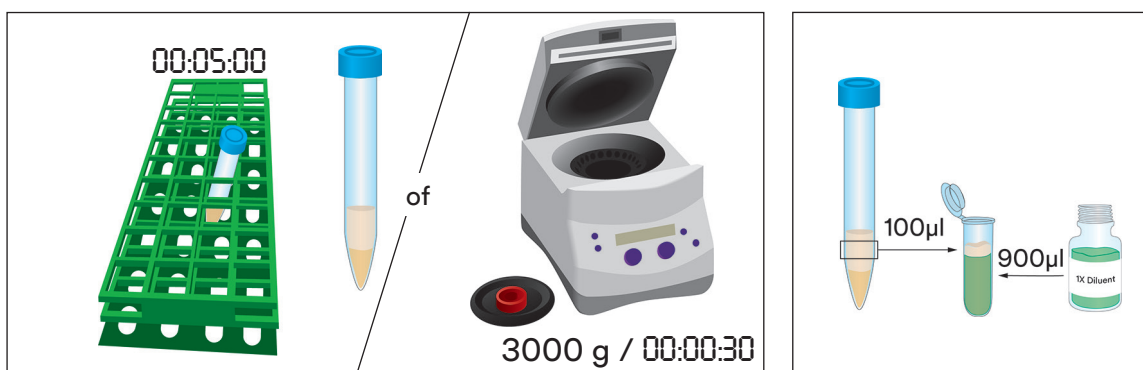
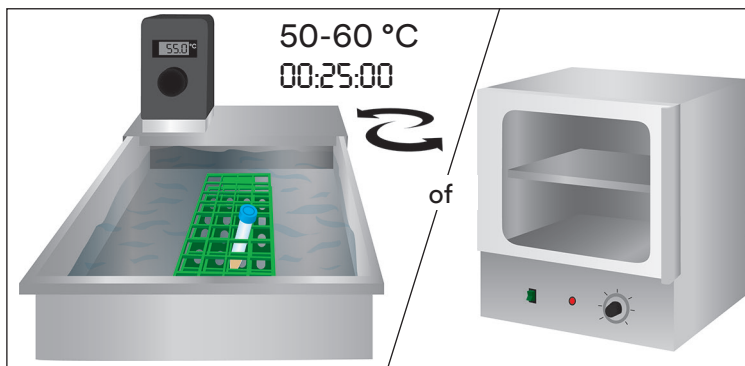
Tabel 2. Voorbereiding monster

| 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 verdunningsbuffer (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 3M ELISA well per monster en/of standaard en plaats de wells in de daarvoor geschikte houder. Plaats de ongebruikte 3M 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 3M™ Amandel Proteïne Standaardconcentraat een set van vier standaarden verdund in verdunningsbuffer (1X).

| Nummer standaard | Concentratie standaard (ng/ml) | Volume van standaard toegevoegd aan 1X verdunningsmiddel | Volume van 1X verdunningsoplossing |
|------------------|--------------------------------|--|------------------------------------|
| 4 | 270 | 10 µl 3M Amandel 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 |

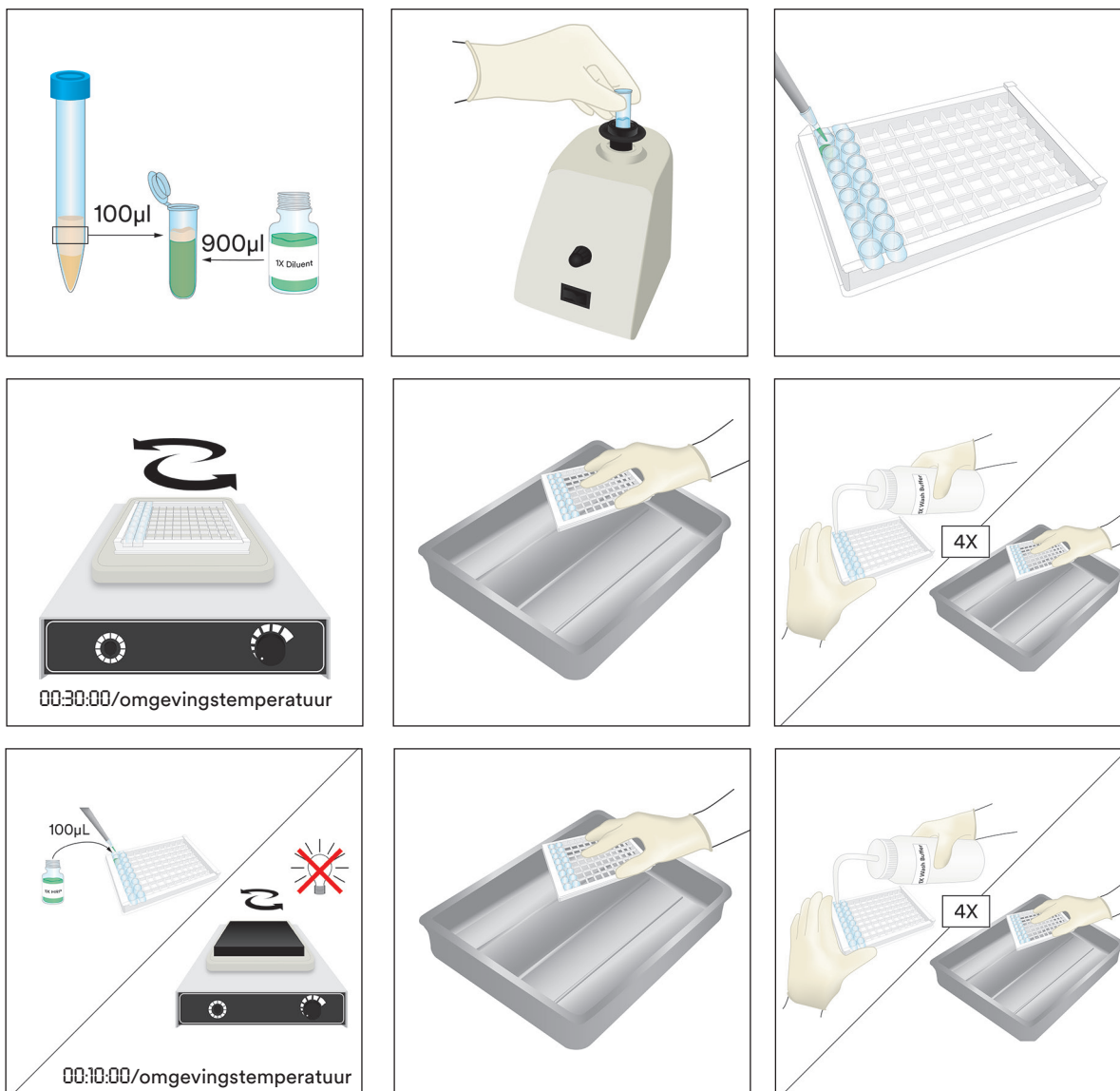
- 2.3 Pipetteer 100 µl van elke standaard in 3M ELISA wells.

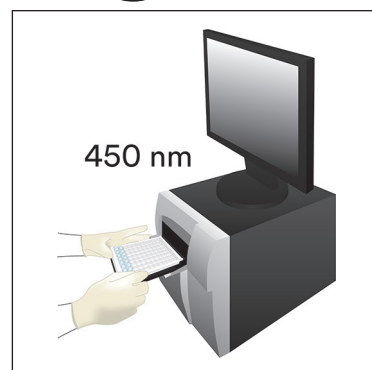
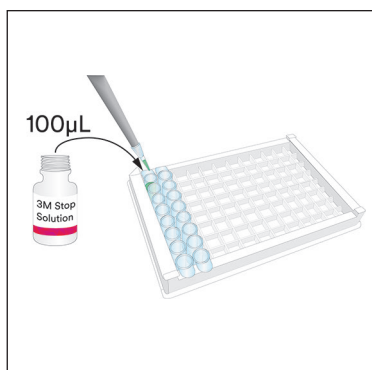
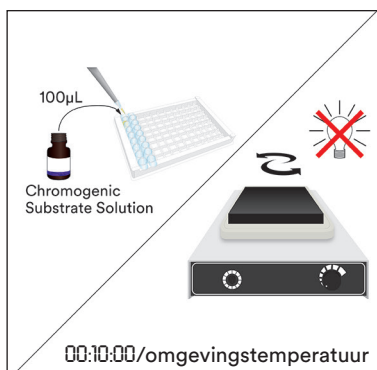
- Standaard 0 (1X Verdunningsbuffer)
- Standaard 1 (10 ng/ml) ppb
- Standaard 2 (30 ng/ml) ppb
- Standaard 3 (90 ng/ml) ppb
- Standaard 4 (270 ng/ml) ppb

- 2.4 Pipetteer 100 µl van het monster dat is geëxtraheerd in stap 1.4 in een 3M ELISA well.

- 2.5 Incubeer 3M 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 3M ELISA wells na de incubatie.
- 2.7 Vul elke 3M 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 μ l 1X amandel HRP-conjugaat in elke 3M 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 μ l 3M Chromogene substraatoplossing (TMB) in elke 3M 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 μ l 3M Stopoplossing toe aan elke 3M 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 $200 \text{ ng/ml} \times 100 = 20.000 \text{ ng/ml (ppb)}$, wat gelijk is aan 20 µg/ml (ppm) .

Minimale prestatiekenmerken

- a. De detectiegrens is 1,9 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 waarschijnlijkheidsniveau³. 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 precisieniveau³.

Precisie

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

Specificiteit en kruislingse reactiviteit

Deze test herkent amandelproteïne en is getest met diverse monsters op kruislingse reactiviteit (Tabel 3.)

Tabel 3. Kruislingse reactiviteit van de 3M Amandel Proteïne ELISA test.

| Matrixmonster | % kruislingse reactiviteit |
|---------------|----------------------------|
| Amandelmeel | (+) |
| Amandelmelk | (+) |
| BLG | < 1% |
| Rundercaseïne | < 1% |
| Rundermelk | < 1% |
| Paranoot | < 1% |
| Boekweitmeel | < 1% |
| Cashew | < 1% |
| Selderij | < 1% |



| | |
|----------------------|------|
| Kikkererwt | < 1% |
| Kokosmeel | < 1% |
| Kokosmelk | < 1% |
| Maismeel | < 1% |
| Parvalbumine uit vis | < 1% |
| Hazelnoot | < 1% |
| Limaboon | < 1% |
| Macadamianoot | < 1% |
| Mosterdzaad | < 1% |
| Ovomucoïde | < 1% |
| Erwtextract | < 1% |
| Pindameel | < 1% |
| Pecannoot | < 1% |
| Pijnboompit | < 1% |
| Pistachenotenmeel | < 1% |
| Pompoenpit | < 1% |
| Sint-jakobsschelp | < 1% |
| Sesamzaad | < 1% |
| Garnalen | < 1% |
| Sorghummeel | < 1% |
| Sojameel | < 1% |
| Sojamelk | < 1% |
| Zonnebloempit | < 1% |
| Walnoot | < 1% |

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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

Produktinformation

Almond Protein ELISA Kit

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

Produktbeskrivning och avsedd användning




3M™ Almond Protein ELISA Kit är avsedd för screening av mandelproteiner i rengör-på-plats (CIP) sista sköljvattnet, sköljvattenprover, livsmedelsingredienser och processade livsmedelsprodukter.






3M Almond Protein ELISA Kit använder en sandwich-ELISA. De mandelproteiner som finns närvarande i provet reagerar med anti-mandelantikroppen, som har adsorberats till ytan av polystyrenmikrotiterbrunnar. Efter avlägsnandet av obundna proteiner genom tvättning tillsätts mandelantikroppar konjugerade med pepparrotsperoxidas (HRP). Dessa enzymmärkta antikroppar bildar komplex med det tidigare bundna mandelproteinet. 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 mandelprotein i provet som testas; därför utgör absorbansen vid 450 nm ett mått på koncentrationen av mandelprotein i provet. Mängden mandelprotein i provet kan extrapoleras från standardkurvan, vilken är konstruerad från standarder med känd koncentration, och justeras för att beakta provutspädningen.

3M Almond Protein ELISA Kit är avsedd för användning i laboratoriemiljö av yrkespersoner som är utbildade i laboratorieteknik. 3M har inte dokumenterat användningen av denna produkt inom andra industrier än livsmedels- och dryckesindustrin. 3M har exempelvis inte dokumenterat produkten för testning av läkemedel, kosmetika, kliniska prover eller veterinärprover. 3M Almond Protein ELISA Kit har inte utvärderats med samtliga möjliga livsmedelsprodukter, livsmedelsbearbetningsmetoder och testprotokoll.

3M Almond 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 |
|--|--|---|---|---|
| 3M™ Almond 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. |
| 3M™ Almond 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. |
| 3M™ Almond Protein standardkoncentrat  | En ampull med en känd koncentration av mandelprotein. | Se avsnittet ELISA-procedur för standardberedning. | 2-8 °C. Förvara inte i fry. | 3M Almond Protein standardkoncentrat är stabilt fram till satsens utgångsdatum. |

| | | | | |
|--|---|---|--|---|
| 3M™ 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 3M spädningsbuffert är stabil fram till satsens utgångsdatum. |
| 3M™ 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 3M tvättlösning är stabil fram till satsens utgångsdatum. 1X tvättlösning är stabil i minst en vecka efter beredningen. |
| 3M™ 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 3M extraktionsbuffertkoncentrat. | 1X extraktionsbuffert och 4X 3M extraktionsbuffert är stabila fram till satsens utgångsdatum. |
| 3M™ kromogen substratlösning  | En flaska med 12 ml 3,3',5,5'- tetrametylbensidin (TMB). | Klara att användas. | 2-8 °C i mörker. | Skyddas från ljus. 3M kromogen substratlösning är stabil fram till satsens utgångsdatum. |
| 3M™ stopplösning  | En flaska med 12 ml 0,3 M svavelsyra. | Klara att användas. | 2–8 °C | 3M 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 3M Almond 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 laboratoriesed¹ eller ISO 17025².

- Följ alltid praxis för standardiserad laboratoriesäkerhet, inklusive användning av lämpliga skyddskläder och skyddsglasögon vid hantering av reagenser.
- Undvik att 3M 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 3M Almond Protein ELISA Kit enligt föreskrifterna på förpackningen och i produktinformationen.
- Använd 3M Almond 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 produktanvisningarna.
- 3M har inte dokumenterat användningen av 3M Almond Protein ELISA Kit inom andra industrier än livsmedels- och dryckesindustrin. 3M 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:

- Alltid använda 3M Almond Protein ELISA Kit före utgångsdatumet.
- Alltid bereda arbetslösningar med användning av koncentrerade reagens som hör till 3M Almond Protein ELISA Kit vid 20-25 °C temperatur.
- 3M Almond Protein standardkoncentrat får inte frysas.
- Om den kromogena substratlösningen blir blå ska den inte användas. Följ god laboratoriesed¹ för att undvika korskontaminering av 3M kromogen substratlösning.

OBSERVERA

För att minska riskerna som förknippas med felaktiga resultat:

- Provstabilitet efter extraktioner har inte utvärderats. ELISA-proceduren bör genomföras strax efter provextraktionen.
- Hantera 3M Almond Protein standarder i enlighet med god laboratoriesed¹ för att undvika korskontaminering av prover.

Se säkerhetsdatabladet för mer information.

Besök vår webbplats på www.3M.com/foodsafety eller kontakta din lokala 3M-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.3M.com/foodsafety eller kontakta din lokala 3M-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 att utvärdera ett 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 3M Livsmedelshygien en garanti för kvaliteten hos de matriser eller processer som testats.

Garantibegränsningar/Begränsad Ersättning

MED UNDANTAG AV VAD SOM UTTRYCKLIGEN ANGES I AVSNITT OM GARANTIBEGRÄNSNING FÖR INDIVIDUELLA FÖRPACKNINGAR, FRÅNSÄGER SIG 3M ALLA UTTRYCKLIGA OCH UNDERFÖRSTÅDDA GARANTIER, INKLUSIVE, MEN INTE BEGRÄNSAT TILL, ALLA GARANTIER BETRÄFFANDE SÄLJBARHET ELLER LÄMPLIGHET FÖR ETT VISST ÄNDAMÅL. Om någon produkt från 3M Livsmedelshygien är defekt kommer 3M eller dess auktoriserade leverantör att efter eget gottfinnande ersätta produkten eller återbetala produktens inköpspris. Detta är den enda ersättning som ges. Kunden måste meddela 3M och returnera produkten inom sextio dagar efter upptäckt av misstänkt defekt. Var vänlig ring Kundtjänst (i USA: 1-800-328-1671) eller din officiella representant för 3M Livsmedelshygien för en auktorisation avseende återsändande av produkt.

Ansvarsbegränsning

3M 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 3M:s ansvar i något som helst lagrum överskrida inköpspriset för den påstått defekta produkten.

Förvaring och kassering

Förvara alla 3M Almond Protein ELISA Kit-komponenter vid 2-8 °C temperatur. Förvara inte i frys. Förvara spädda arbetslösningar enligt beskrivningen i tabell 1.

3M Almond 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. 3M extraktionsbuffert

För att bereda 1X extraktionsbuffert, tillsätt en del av 3M 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. 3M spädningslösning

För att bereda 1X spädningslösning, tillsätt en del av 3M spädningsmedel (5X) till fyra delar avjoniserat eller destillerat vatten. Varje prov kräver totalt 4,5 ml 1X spädningslösning.

c. 3M tvättlösning

För att bereda 1X tvättlösning, tillsätt en del 3M tvättlösning (20X) till 19 delar avjoniserat eller destillerat vatten. Varje 3M ELISA-brunn kräver ungefär 2,5 ml 1X tvättlösning.

Obs! Bildandet av kristaller i 3M tvättlösningen (20X) kan ske vid lagring vid 2-8 °C. För upplösning av kristaller, värm 3M tvättlösningen (20X) till 30-35 °C i ett vattenbad eller inkubator innan du bereder tvättlösningen (1X).

d. 3M Almond HRP-konjugat

För att bereda 1X Almond HRP-konjugat, tillsätt en del av 3M Almond HRP-konjugat (10X) och späd i 9 delar 1X spädningslösning. Bered direkt innan användning. Varje 3M ELISA-brunn kräver 100 µl 1X Almond HRP-konjugat.

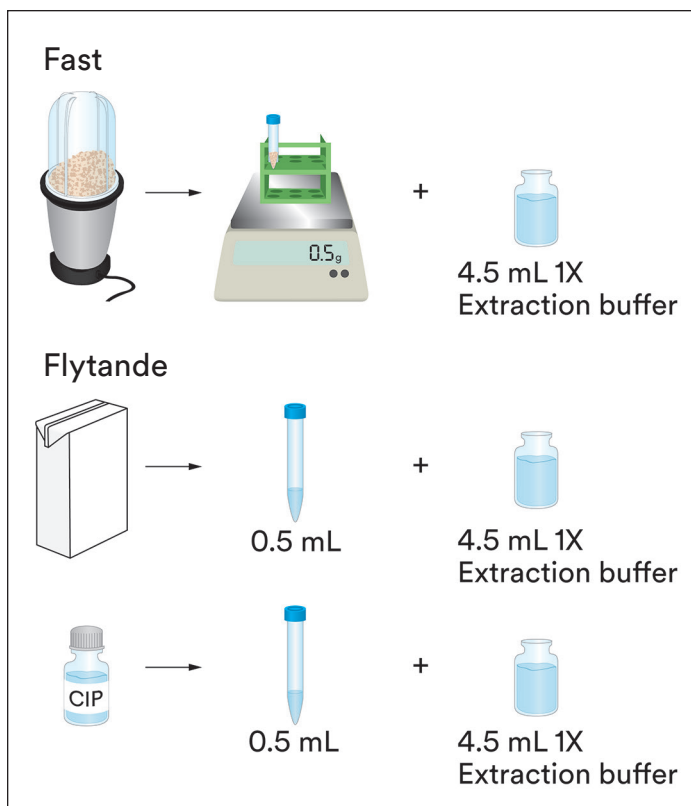
Provberedning

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

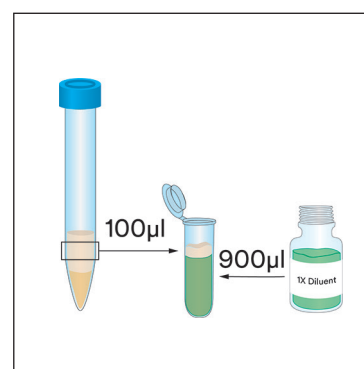
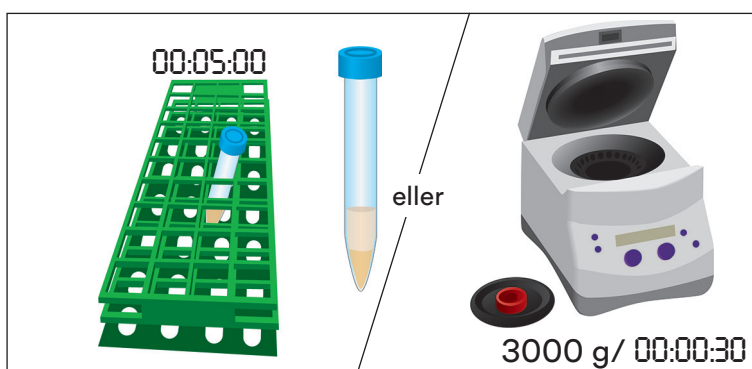
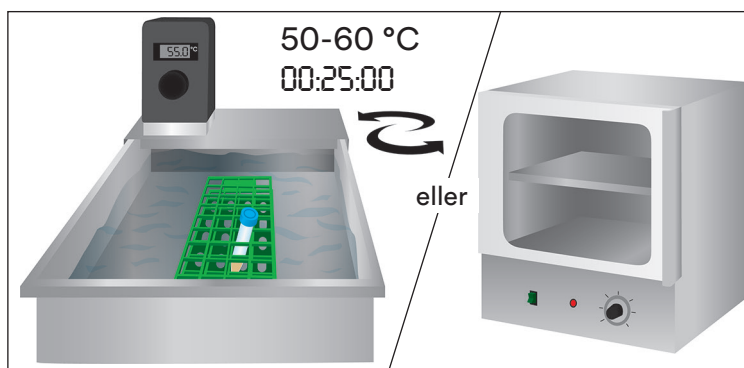
1,1 Bered prov för proteinextraktion i ett rent provrör eller engångsrör i enlighet med beskrivningen i tabell 2.

Tabell 2. Provberedning

| Provmatris | Provstorlek | Spädning (1/10) |
|--|---------------|--|
| Fast föda | 0,5 ± 0,02 g | Tillsätt 4,5 ± 0,09 ml förvärm 1X extraktionsbuffert |
| Flytande föda | 0,5 ± 0,01 ml | Tillsätt 4,5 ± 0,09 ml förvärm 1X extraktionsbuffert |
| Rengör-på-plats (CIP) sista sköljvattnet | 0,5 ± 0,01 ml | Tillsätt 4,5 ± 0,09 ml förvärm 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 pella 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 spädningsbuffert (1X). Vortexblanda eller skaka för att blanda väl (detta motsvarar en 1/100 spädning av det ursprungliga provet.)



ELISA-procedur

- 2.1 Avlägsna en 3M ELISA-brunn per prov och/eller standard och placera brunnarna i brunnhållaren. Återför oanvända 3M ELISA-brunnarna till foliepåsen, försegla påsen och förvara den vid 2-8 °C.
- 2.2 Använd 3M™ Almond Protein standardkoncentrat för att bereda en uppsättning av fyra standarder spädda i spädningsbuffert (1X).

| Standard nummer | Standardkoncentration (ng/ml) | Volym för standard som lagts till 1X spädningsmedel | Volym för 1X spädningslösning |
|-----------------|-------------------------------|---|-------------------------------|
| 4 | 270 | 10 µl av 3M Almond Protein standardkoncentrat | 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 Pipettera 100 µl av varje standard i 3M ELISA-brunnarna.

- Standard 0 (1X spädningsbuffert)
- 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 3M ELISA-brunn.

- 2.5 Inkubera 3M 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 3M ELISA brunnarna aspireras.

- 2.7 Fyll varje 3M 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.

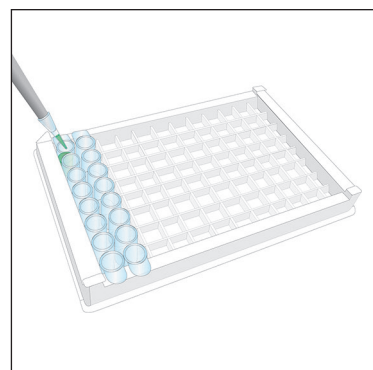
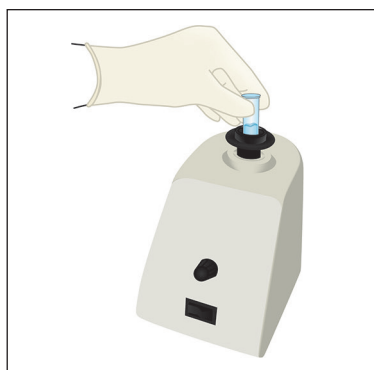
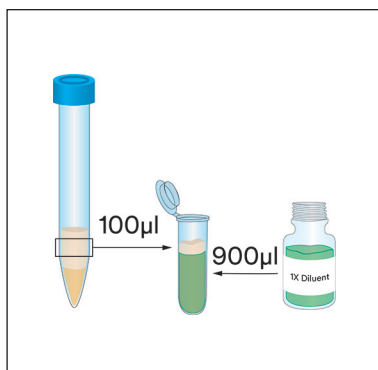
- 2.8 Pipettera 100 µl av 1X Almond HRP-konjugat i varje 3M ELISA brunn. Inkubera på en orbital shaker inställd på 400 rpm vid omgivningstemperatur under 10 ± 2 minuter. Håll plattan täckt i mörker och vid horisontell jämn höjdnivå under detta steg.

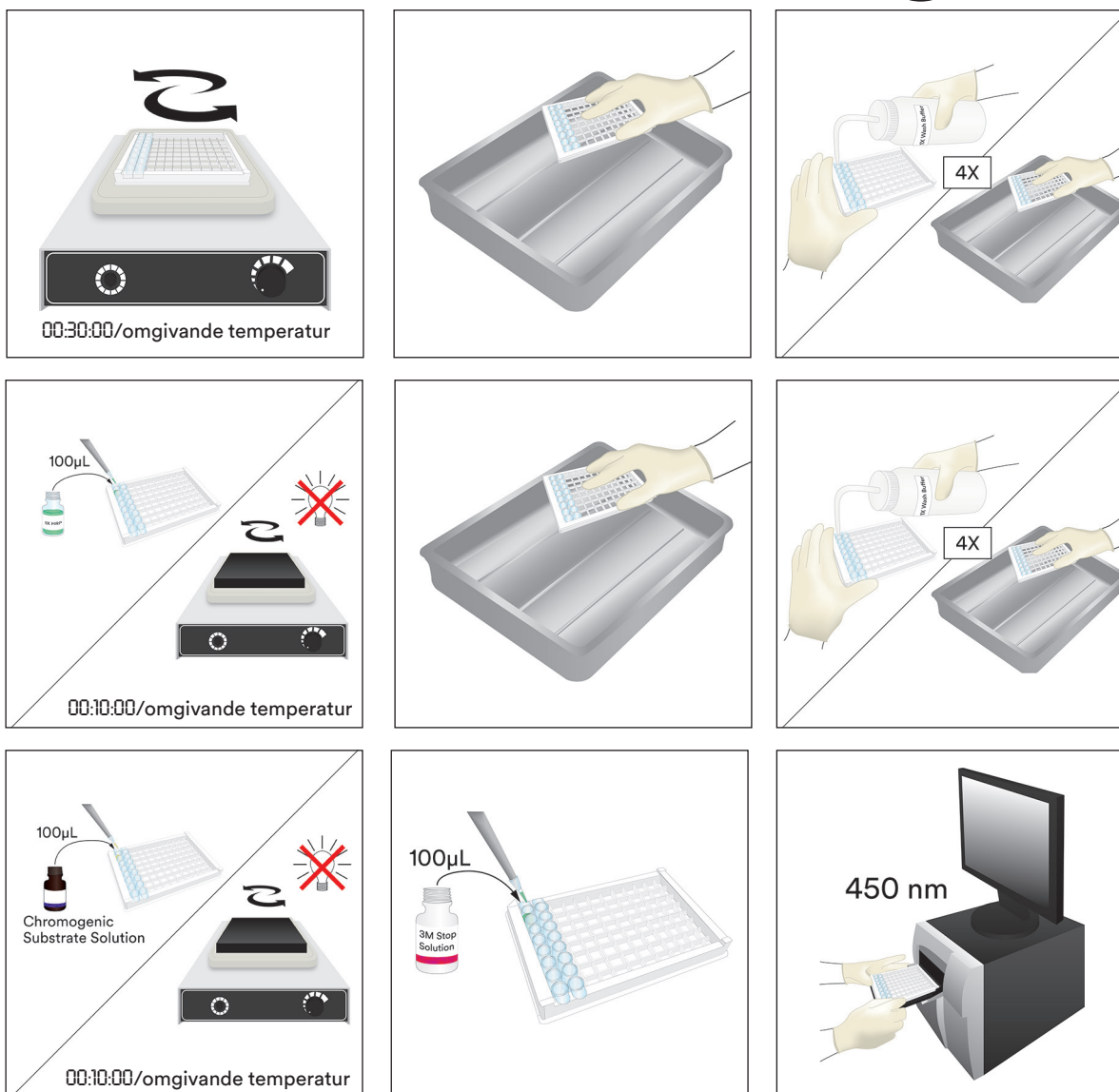
- 2.9 Upprepa steg 2.6 och 2.7 för att slutföra totalt fyra tvättar med tvättlösning (1X).

- 2.10 Pipettera 100 µl av 3M kromogen substratlösning (TMB) i varje 3M 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 3M stopplösning i varje 3M 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 spädningsfaktorn av provet är 1/100 och provkoncentrationen för standardkurvan är 200 ng/ml (ppb) är den slutliga provkoncentrationen $200 \text{ ng/ml} \times 100 = 20\,000 \text{ ng/ml (ppb)}$, vilket är 20 µg/ml (ppm).

Minsta prestandaegenskaper

- a. Detektionsgränsen (Limit of Detection, LOD) är 1,9 ng/ml (ppb)

Detektionsgränsen definieras som den lägsta koncentrationen av allergenet i ett testprov som kan särskiljas från ett sant blindprov vid en bestämd sannolikhetsnivå³. Den bestäms genom att lägga till tre standardavvikelser till det genomsnittliga optiska densitetsvärdet för fyrtioåtta standard nollreplikater 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 precision³.

Precision

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

Specificitet och korsreaktivitet

Denna metod detekterar mandelprotein och har testats gentemot olika prover för korsreaktivitet (tabell 3.)

Tabell 3. Korsreaktivitet för 3M Almond Protein ELISA Kit.

| Matrixprov | % korsreaktivitet = |
|-----------------|---------------------|
| Mandelmjöl | (+) |
| Mandelmjölk | (+) |
| BLG | <1 % |
| Bovint kasein | <1 % |
| Bovin mjölk | <1 % |
| Paranöt | <1 % |
| Bovetmjöl | <1 % |
| Cashew | <1 % |
| Selleri | <1 % |
| Kikärt | <1 % |
| Kokosmjöl | <1 % |
| Kokosmjölk | <1 % |
| Majsmjöl | <1 % |
| Fiskparvalbumin | <1 % |
| Hasselnöt | <1 % |
| Limaböna | <1 % |
| Macadamianöt | <1 % |
| Senapsfrö | <1 % |
| Ovomucoid | <1 % |
| Ärtextrakt | <1 % |
| Jordnötsmjöl | <1 % |
| Pekannöt | <1 % |
| Pinjenöt | <1 % |
| Pistaschmjöl | <1 % |
| Pumpafrö | <1 % |
| Kammussla | <1 % |
| Sesamfrö | <1 % |
| Räka | <1 % |
| Sorghummjöl | <1 % |
| Sojamjöl | <1 % |
| Sojamjölk | <1 % |
| Solrosfrön | <1 % |
| Valnöt | <1 % |

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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

Produktvejledning

Mandel Protein ELISA Kit

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

Teknisk beskrivelse og tilsigtet anvendelse




3M™ Mandel Protein ELISA Kit er beregnet til påvisning af mandelproteiner i clean-in-place (CIP) slutskyllevand, miljømæssige prøver, fødevaringredienser og forarbejdede fødevarer.

3M Mandel Protein ELISA Kit bruger en sandwich-ELISA. Mandelproteinerne, som er til stede i prøven, reagerer med antimandel-antistoffet, der er adsorberet til overfladen af polystyrenmikrotiterbrønde. Efter fjernelse af ubundne proteiner ved vask tilsættes antimandel-antistoffer konjugeret med peberrodsperoxidase (HRP). Disse enzymerkede antistoffer danner komplekser med det tidligere bundne mandelprotein. 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 mandelprotein i den testede prøve; absorption ved 450 nm er således et mål for koncentrationen af mandelprotein i testprøven. Mængden af mandelprotein i testprøven kan ekstrapoleres fra standardkurven, konstrueret ud fra standarder med kendt koncentration, og justeres til at tage højde for prøvefortyndingen.






3M Mandel Protein ELISA Kit er beregnet til brug i laboratorieomgivelser af professionelle, der er uddannede i laboratorieteknikker. 3M har ikke dokumenteret brugen af dette produkt i andre brancher end føde- og drikkevarebranchen. For eksempel har 3M ikke dokumenteret dette produkt til test af medicinalvarer, kosmetiske, kliniske eller veterinære prøver. 3M Mandel Protein ELISA Kit er ikke blevet evalueret med alle mulige fødevarerprodukter, fødevarerprocesser og testprotokoller.

3M Mandel 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 |
|--|--|---|---|--|
| 3M™ Mandel 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. |
| 3M™ Mandel 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. |
| 3M™ Mandel Protein standardkoncentrat  | Et hætteglas med en kendt koncentration af mandelprotein. | Der henvises til afsnittet ELISA-procedure for standardklargøring. | 2-8 °C. Undlad at fryse. | 3M Mandel Protein standardkoncentrat er stabilt indtil udløbsdatoen for kittet. |



| | | | | |
|--|---|---|--|--|
| 3M™-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 3M-fortynderbuffer er stabil indtil udløbsdatoen for kittet. |
| 3M™-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 3M-vaskopløsningen er stabil indtil udløbsdatoen for kittet. 1X vaskeopløsningen er stabil i mindst en uge efter klargøring. |
| 3M™-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 3M ekstraktionsbufferkoncentrat. | 1X ekstraktionsbuffer og 4X 3M-ekstraktionsbuffer er stabile indtil udløbsdatoen for kittet. |
| 3M™-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. 3M-kromogenisk substratopløsning er stabil indtil udløbsdatoen for kittet. |
| 3M™-stopopløsning  | Én flaske med 12 ml af 0,3 M svovlsyre. | Klar til brug. | 2-8 °C | 3M-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
- Mikrotiterpladeafleser
- 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 3M Mandel 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 laboratoriepraksis¹ eller ISO 17025².



- Følg altid sikkerhedspraksis for et standardlaboratorium, inklusive brug af passende beskyttelsesudstyr og beskyttelsesbriller under håndtering af reagenser.
- Undgå hudkontakt med 3M-stopopløsning. Se sikkerhedsdatablad for yderligere sikkerhedsoplysninger.

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

- Opbevar 3M Mandel Protein ELISA Kit, som angivet på pakken og i produktvejledningen.
- Anvend 3M Mandel Protein ELISA Kit til fødevarer og miljøprøver, der er blevet godkendt internt eller af en tredjepart.
- Følg proceduren, og udfør tests præcist som angivet i produktvejledningen.
- 3M har ikke dokumenteret brugen af 3M Mandel Protein ELISA Kit i andre brancher end føde- og drikkevarerbranchen. For eksempel har 3M 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 3M Mandel Protein ELISA Kit inden udløbsdatoen.
- Klargør altid arbejdsopløsninger ved hjælp af 3M Mandel Protein ELISA Kit-koncentrerede reagenser ved 20-25 °C temperatur.
- Undlad at fryse 3M Mandel Protein standardkoncentrat.
- Hvis den kromogeniske substratopløsning bliver blå, må den ikke bruges. Følg god laboratoriepraksis¹ for at undgå krydskontaminering af 3M-kromogenisk substratopløsning.

BEMÆRK

For at reducere risiciene forbundet med unøjagtige resultater:

- Prøvestabilitet efter ekstraktioner er ikke blevet evalueret. ELISA-proceduren bør udføres lige efter prøveekstraktion.
- Håndter 3M Mandel Protein-standarder efter god laboratoriepraksis¹ for at forhindre krydskontaminering af prøver.

Se sikkerhedsdataarket for yderligere information.

For oplysninger om dokumentation af produktets kapacitet, så besøg vores hjemmeside www.3M.com/foodsafety, eller kontakt din lokale 3M-repræsentant eller -distributør.

Brugeransvar

Brugerne er ansvarlige for at gøre sig bekendt med produktvejledninger og oplysninger. Besøg vores hjemmeside på www.3M.com/foodsafety, eller kontakt din lokale 3M repræsentant eller distributør for yderligere oplysninger.

Som med alle testmetoder, der anvendes til fødevareranalyse, kan testmatrixen 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 fødevarerprøven 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 testmetoderne og resultaterne lever op til kundernes og leverandørernes krav.

Som med alle andre testmetoder gælder det, at de resultater, der opnås med dette 3M fødevarerprodukt udstyr, ikke giver garanti for kvaliteten af detestede matricer og processer.

Begrænsning af Garantier / Begrænset Retsmiddel

BORTSET FRA HVAD DER ER UDTRYKKELIGT ANFØRT I DEN BEGRÆNSEDE GARANTI TIL INDIVIDUEL PRODUKTEMBALLAGE, FRASIGER 3M SIG ALLE UDTRYKKELIGE OG UNDERFORSTÅEDE GARANTIER INDBEFATTET MEN IKKE BEGRÆNSET TIL ENHVER SALGBARHEDSGARANTI ELLER EGNETHED TIL EN BESTEMT ANVENDELSE. Hvis et 3M Food Safety-produkt er behæftet med fejl eller mangler, vil 3M eller en af dennes autoriserede distributører efter dennes eget skøn udskifte eller refundere produktets købspris. Dette er den eneste til rådighed værende afhjælpning. Du skal straks, inden for 60 dage efter at have opdaget enhver formodet fejl ved et produkt, meddele dette og returnere produktet til 3M. Kontakt venligst kundeservice (1-800-328-1671 i USA) eller den autoriserede 3M fødevarer sikkerhedskonsulent for at modtage en produktreturneringsautorisation.



Begrænsning af 3Ms Ansvar

3M 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 3M's erstatningsansvar kunne overstige købsprisen af produktet der efter sigende er behæftet med fejl.

Opbevaring og bortskaffelse

Opbevar 3M Mandel Protein ELISA Kit-indhold ved 2-8 °C. Undlad at fryse. Opbevar fortyndede arbejdsopløsninger som beskrevet i tabel 1.

3M Mandel 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. 3M-ekstraktionsbuffer

For at klargøre 1X ekstraktionsbuffer skal du tilsætte én del af 3M-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. 3M-fortynderopløsning

For at klargøre 1X fortynderopløsning skal du tilsætte én del af 3M-fortynder (5X) til fire dele deioniseret eller destilleret vand. Hver prøve kræver 4,5 ml af 1X fortynderopløsning.

c. 3M-vaskeopløsning

For at klargøre 1X -vaskeopløsning skal du tilsætte én del af 3M-vaskeopløsning (20X) til 19 dele deioniseret eller destilleret vand. Hver 3M ELISA-brønd kræver ca. 2,5 ml 1X vaskeopløsning.

Bemærk: Dannelsen af krystaller i 3M-vaskeopløsningen (20X) kan forekomme, når den opbevares ved 2-8 °C. For at opløse krystaller, så opvarmes 3M-vaskeopløsningen (20X) til 30-35 °C i et vandbad eller en inkubator inden klargøring af vaskeopløsningen (1X).

d. 3M Mandel HRP-konjugat

For at klargøre 1X Mandel HRP-konjugat, skal du tilsætte én del af 3M Mandel HRP-konjugat (10X) og fortynde i 9 dele af 1X fortynderopløsning. Klargør umiddelbart før brug. Hver 3M ELISA-brønd kræver 100 µl af 1X Mandel HRP-konjugat.

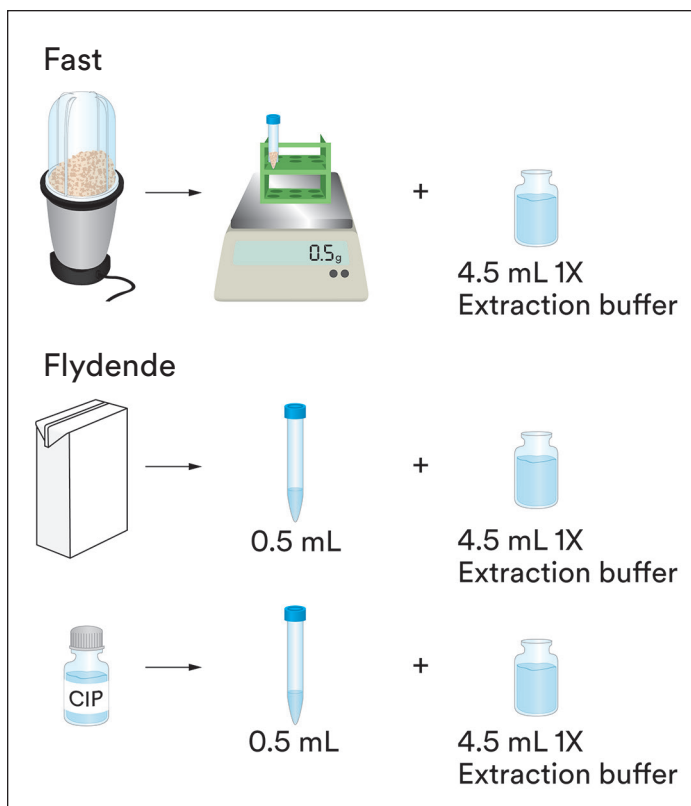
Prøveforberedelse

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

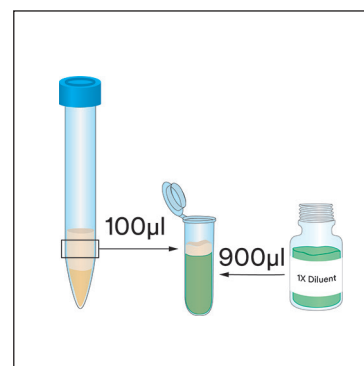
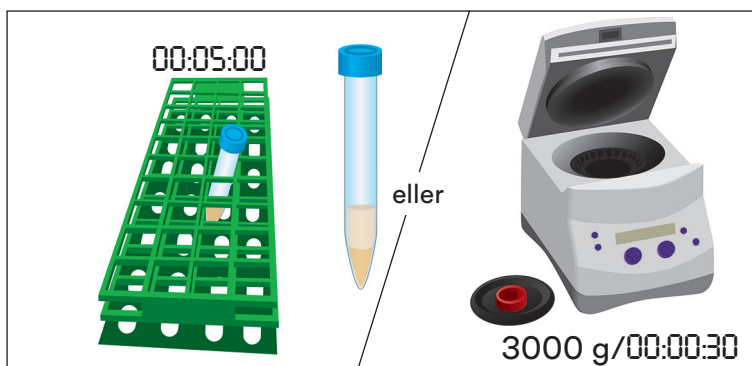
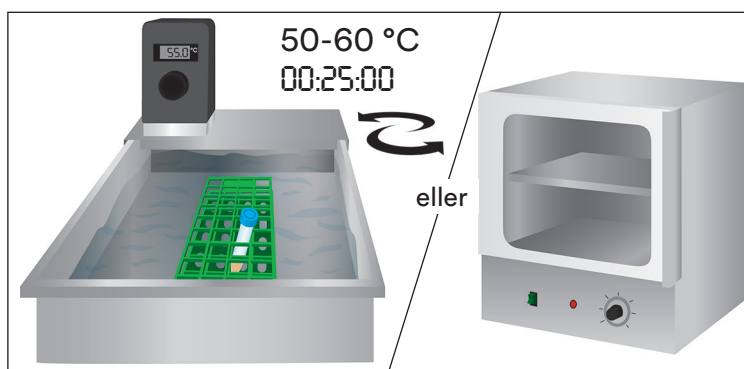
1.1 Klargør prøve til proteinekstraktion i et rent reagensrør eller engangsrør som beskrevet i tabel 2.

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) slutskyllvand | 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 fortynderbuffer (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 3M ELISA-brønd pr. prøve og/eller standard, og placer brøndene i brøndholderen. Læg de ubrugte 3M ELISA-brønde tilbage i folieposen. Genforsegl og returner til opbevaring ved 2-8 °C.
- 2.2 Brug 3M™ Mandel Protein standardkoncentratet til at klargøre et sæt af fire standarder fortyndet i fortynderbuffer (1X).

| Standardnummer | Standardkoncentration (ng/ml) | Mængde af standard tilsat til 1X fortynder | Mængde af 1X fortynderopløsning |
|----------------|-------------------------------|---|---------------------------------|
| 4 | 270 | 10 µl af 3M Mandel 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 Pipetter 100 µl af hver standard ind i 3M ELISA-brønde.

- Standard 0 (1X fortynderbuffer)
- 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 Pipetter 100 µl af den ekstraherede prøve klargjort i 1.4 ind i en 3M ELISA-brønd.

- 2.5 Inkubér 3M 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 3M ELISA-brønde.

- 2.7 Fyld hver 3M 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.

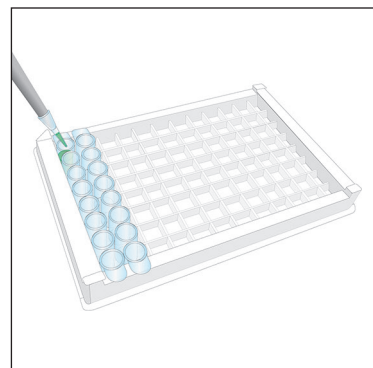
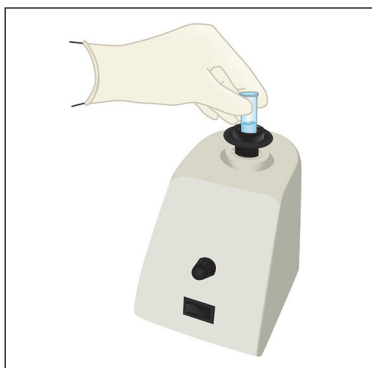
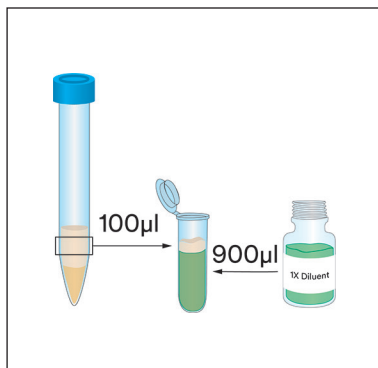
- 2.8 Pipetter 100 µl af 1X Mandel HRP-konjugat ind i hver 3M ELISA-brønd. Inkubér på en orbital ryster indstillet til 400 o/min. ved omgivelsestemperatur i 10 ± 2 minutter. Hold pladen dækket i mørket og nivelleret under dette trin.

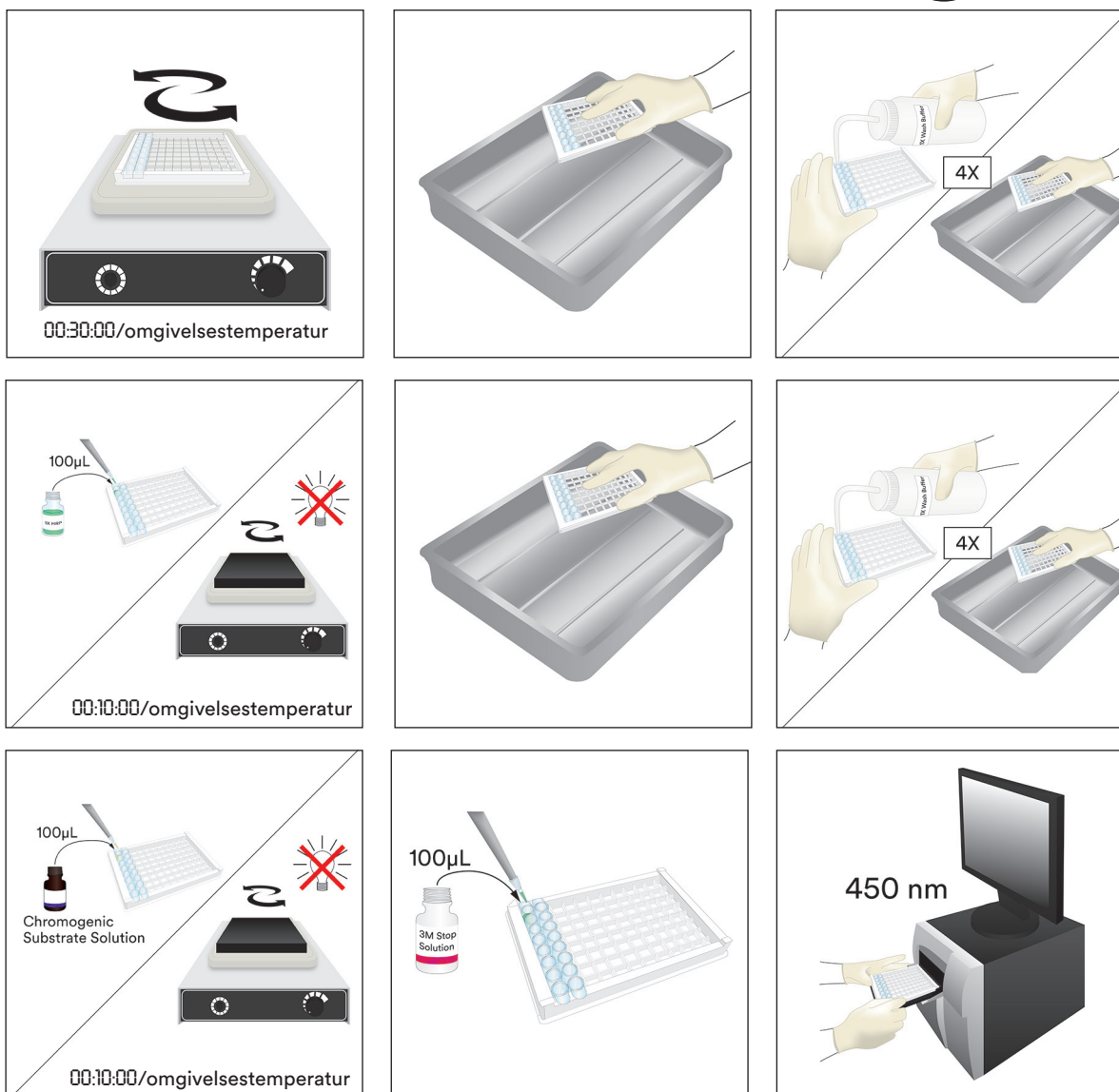
- 2.9 Gentag trin 2.6 og 2.7 for at færdiggøre i alt fire vaske med vaskopløsning (1X).

- 2.10 Pipetter 100 µl af 3M kromogenisk substratopløsning (TMB) ind i hver 3M 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 3M-stopopløsning til hver 3M ELISA-brønd og bestemme absorptionen (ved 450 nm) inden for 30 minutter.





Resultatanalyse

- 3.1 Subtrahér den gennemsnitlige baggrundsværdi for hver prøve (gennemsnitlig absorptions aflæsning af prøven minus gennemsnitsabsorptions aflæsning af standard nul.)
- 3.2 Konstruér, ved hjælp af en computersoftware, der er i stand til at generere en fireparameterlogistikurvepasning, en standardkurve ved at plote koncentrationen i ng/ml (ppb) på x-aksen og absorptions aflæsningen 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 $200 \text{ ng/ml} \times 100 = 20.000 \text{ ng/ml (ppb)}$, som er 20 µg/ml (ppm) .

Minimumsydeevneegenskaber

- a. Detektionsgrænsen (LOD) er 1,9 ng/ml (ppb)

Detektionsgrænsen defineres som den laveste koncentration af allergenet i en testprøve, som kan skelnes fra en ægte blindprøve ved et bestemt sandsynlighedsniveau³. Den bestemmes ved at tilføje tre standardafvigelse 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 præcisionsniveau³.

Præcision

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

Specificitet og krydsreaktivitet

Denne analyse genkender mandelprotein og blev testet versus forskellige prøver for krydsreaktivitet (tabel 3.)

Tabel 3. Krydsreaktivitet af 3M Mandel Protein ELISA Kit.

| Matrixprøve | % krydsreaktivitet |
|-------------------|--------------------|
| Mandelmel | (+) |
| Mandelmælk | (+) |
| BLG | <1 % |
| Bovint kasein | <1 % |
| Komælk | <1 % |
| Paranød | <1 % |
| Boghvedemel | <1 % |
| Cashewnød | <1 % |
| Selleri | <1 % |
| Kikært | <1 % |
| Kokosmel | <1 % |
| Kokosmælk | <1 % |
| Majsmel | <1 % |
| Fiske-parvalbumin | <1 % |
| Hasselnød | <1 % |
| Limabønne | <1 % |
| Macadamianød | <1 % |
| Sennepsfrø | <1 % |
| Ovomucoid | <1 % |
| Ærteudtræk | <1 % |
| Jordnøddemel | <1 % |
| Pecannød | <1 % |
| Pinjekerne | <1 % |
| Pistaciemel | <1 % |
| Græskarfrø | <1 % |
| Kammusling | <1 % |
| Sesamfrø | <1 % |
| Reje | <1 % |
| Sorghummel | <1 % |
| Sojamel | <1 % |
| Sojamælk | <1 % |
| Solsikkefrø | <1 % |
| Valnød | <1 % |

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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

Produktveiledning

Mandelprotein ELISA Kit

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

Produktbeskrivelse og tiltenkt bruk




3M™ Mandelprotein ELISA Kit er beregnet for å påvise mandelproteiner i CIP skyllevann, miljøprøver, næringsmiddelingsredienser og prosesserte næringsmidler.






3M Mandelprotein ELISA Kit bruker en sandwich ELISA. Mandelproteinene som er til stede i prøven, reagerer med antistoffet anti-mandel, som har blitt adsorbert til overflaten av polystyrenmikrotiterbrønnene. Etter fjerning av ubundne proteiner ved vasking, tilsettes antistoffer for anti-mandel som er konjugert med pepperrotperoksidase (HRP). Disse enzymmerkede antistoffene danner komplekser med det tidligere bundne mandelproteinet. 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 mandelprotein i prøven som testes, absorbansen ved 450 nm er således et mål for konsentrasjonen av mandelprotein i testprøven. Mengden mandelprotein i prøven kan ekstrapoleres fra standardkurven, konstruert fra standarder med kjent konsentrasjon, og justeres for å vurdere prøvefortynningen.

3M Mandelprotein ELISA Kit er beregnet for bruk i laboratoriemiljø av kompetente labteknikere som er utdannet i laboratorieteknikker. 3M har ikke godkjent dette produktet for bruk i andre industrier enn mat og drikke. 3M har for eksempel ikke godkjent dette produktet for testing av farmasøytiske, kosmetiske, kliniske eller veterinærprøver. 3M Mandelprotein ELISA Kit har ikke blitt evaluert med alle mulige næringsmidler, næringsmiddelprosesser og testprotokoller.

3M Mandelprotein ELISA Kit inneholder 96 brønner, beskrevet i tabell 1.

Tabell 1. Settkomponenter

| Objekt | Beskrivelse | Preparering (se delen Preparering av reagens for detaljer) | Oppbevaring | Stabilitet |
|--|---|--|---|---|
| 3M™ mandelprotein 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. |
| 3M™ Mandel HRP-konjugat (10X)  | En ampulle 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 stabilt til utløpsdatoen for settet. |
| 3M™ mandelprotein standard konsentrat  | En ampulle med kjent konsentrasjon av mandelprotein. | Se ELISA-prosedyredelen for standard preparering. | 2–8 °C. Må ikke fryses. | 3M mandelprotein standard konsentrat er stabilt til utløpsdatoen for settet. |

| | | | | |
|---|---|---|--|--|
| 3M™ 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 3M fortynningsbuffer er stabil til utløpsdatoen for settet. |
| 3M™ 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 3M vaskeløsningen er stabil til utløpsdatoen for settet. 1X-vaskeløsningen er stabil i minst en uke etter preparering. |
| 3M™ ekstrasjonsbuffer E26 (4X)  | En flaske med 120 ml 4X ekstrasjonsbuffer. | 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 ar- beidsløsningen og 4X 3M ekstrasjonsbufferkonsen- tratet. | 1X ekstrasjonsbuffer og 4X 3M ekstrasjonsbuffer er stabile til utløpsdatoen for settet. |
| 3M™ kromogen substratløsning  | En flaske med 12 ml 3,3',5,5'- tetrametylbenzidin (TMB). | Klar til bruk. | 2–8 °C i mørket. | Beskytt mot lys. Den 3M kromogene substratløsningen er stabil frem til utløpsdatoen for settet. |
| 3M™ stoppløsning  | En flaske med 12 ml 0,3 M svovelsyre. | Klar til bruk. | 2–8 °C | 3M stoppløsning er stabil 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 3M Mandelprotein 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 sitt personell i nåværende riktig testteknikk, for eksempel god laboratoriepraksis¹ eller ISO 17025².
- Følg alltid standard praksis for laboratoriesikkerhet, inkludert bruk av egnet personlig verneutstyr og øyevern ved håndtering av reagensrør.
- Unngå hudkontakt med 3M stoppløsningen, se sikkerhetsdatabladet for ytterligere sikkerhetsinformasjon.

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

- Oppbevar 3M Mandelprotein ELISA Kit slik som beskrevet på pakningen og i produktveiledningen.
- Bruk 3M Mandelprotein ELISA Kit med mat- og miljøprøver som er godkjent internt eller av en tredjepart.
- Følg protokollen og utfør testene akkurat slik de beskrives i produktveiledningen.
- 3M har ikke godkjent 3M Mandelprotein ELISA Kit for bruk i andre industrier enn mat og drikke. 3M 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 3M Mandelprotein ELISA Kit før utløpsdatoen.
- Preparer alltid arbeidsløsninger ved hjelp av de konsentrerte reagensene i 3M Mandelprotein ELISA Kit ved en temperatur på 20–25 °C.
- 3M™ mandelprotein standard konsentratet må ikke utsettes for frost.
- Ikke bruk den kromogene substratløsningen hvis den blir blå. Følg god laboratoriepraksis¹ for å unngå krysskontaminering av 3M kromogen substratløsningen.

MERKNAD

For å redusere risikoen forbundet med unøyaktige resultater:

- Prøvestabilitet etter ekstraksjon har ikke blitt evaluert. ELISA-prosedyren bør utføres rett etter prøveekstraksjon.
- Håndter 3M mandelproteinstandarder i henhold til god laboratoriepraksis¹ for å hindre krysskontaminering av prøver.

Se sikkerhetsdatabladet for ytterligere informasjon.

For informasjon om dokumentasjon av produktytelse, kan du besøke vår nettside på www.3M.com/foodsafety eller kontakte din lokale 3M-representant eller -forhandler.

Brukeransvar

Brukere er ansvarlige for å sette seg inn i instruksjoner og informasjon om produktet. Besøk nettsiden vår www.3M.com/foodsafety eller kontakt din lokale representant eller distributør i 3M 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 laboratorteknikk 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 prøvemethoder og resultater tilfredsstiller kundens og forhandlerens forlangende.

Som med alle testmetoder, utgjør ikke resultatene som oppnås ved bruk av noe 3M Food Safety-produkt noen garanti om kvaliteten av matrisene eller prosessene som testes.

Begrensning av Garantier / Begrensede Rettigheter

MED MINDRE DET ER UTRYKKELIG SKREVET I EN BEGRENSET GARANTI PÅ EN PRODUKTPAKNING, FRASKRIVER 3M SEG ALLE DIREKTE OG INDIREKTE GARANTIER, INKLUDERT MEN IKKE BEGRENSET TIL, ENHVER GARANTI OM SALGBARHET ELLER ANVENDELSE TIL ET BESTEMT FORMÅL. Hvis noe 3M Food Safety-produkt er defekt, vil 3M og dets autoriserte distributører erstatte eller refundere produktets kjøpesum etter eget skjønn. Dette er dine ubetingede rettigheter. Du må straks varsle 3M innen seksti dager fra oppdagelsen av enhver mulig feil i et produkt og returnere dette produktet til 3M. Ring kundeservice (06384 i Norge) eller ta kontakt med din offisielle 3M Food Safety-representant for en "returgodsavtale".

Begrensning av 3Ms Ansvar

3M VIL IKKE VÆRE ANSVARLIG FOR NOE TAP ELLER SKADE, DIREKTE ELLER INDIREKTE, SPESIELL, TILFELDIG ELLER FØLGESKADE, INKLUDERT MED IKKE BEGRENSET TIL TAPT FORTJENESTE. Ikke under noen omstendighet skal 3Ms ansvar, under noen juridisk teori, overstige kjøpesummen for et produkt som antas å være defekt.

Oppbevaring og avhending

Oppbevar 3M Mandelprotein ELISA Kit ved 2–8 °C. Må ikke fryses. Oppbevar fortynnede arbeidsløsninger som beskrevet i tabell 1.

Komponentene i 3M Mandelprotein 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. 3M ekstraksjonsbuffer

For å preparere 1X ekstraksjonsbuffer, tilsett en del av 3M 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. 3M fortynningsmiddel

For å preparere 1X fortynningsmiddel, tilsett en del av 3M fortynningsmiddel (5X) til fire deler avionisert eller destillert vann. Hver prøve behøver totalt 4,5 ml 1X fortynningsmiddel.

c. 3M vaskeløsninger

For å preparere 1X vaskeløsning, tilsett en del 3M vaskeløsning (20X) til 19 deler avionisert eller destillert vann. Hver 3M ELISA-brønn behøver omtrent 2,5 ml 1X vaskeløsning.

Merk: Det kan forekomme krystalldannelse i 3M vaskeløsningen (20X) når den lagres ved 2–8 °C. For å løse opp krystallene kan du varme 3M vaskeløsningen (20X) til 30–35 °C i et vannbad eller inkubator før preparering av vaskeløsningen (1X).

d. 3M mandel HRP-konjugat

For å preparere 1X mandel HRP-konjugat, tilsett en del av 3M mandel HRP-konjugat (10X) og fortynn den i 9 deler 1X fortynningsmiddel. Klargjør umiddelbart før bruk. Hver 3M ELISA-brønn behøver 100 µl av 1X mandel HRP-konjugat.

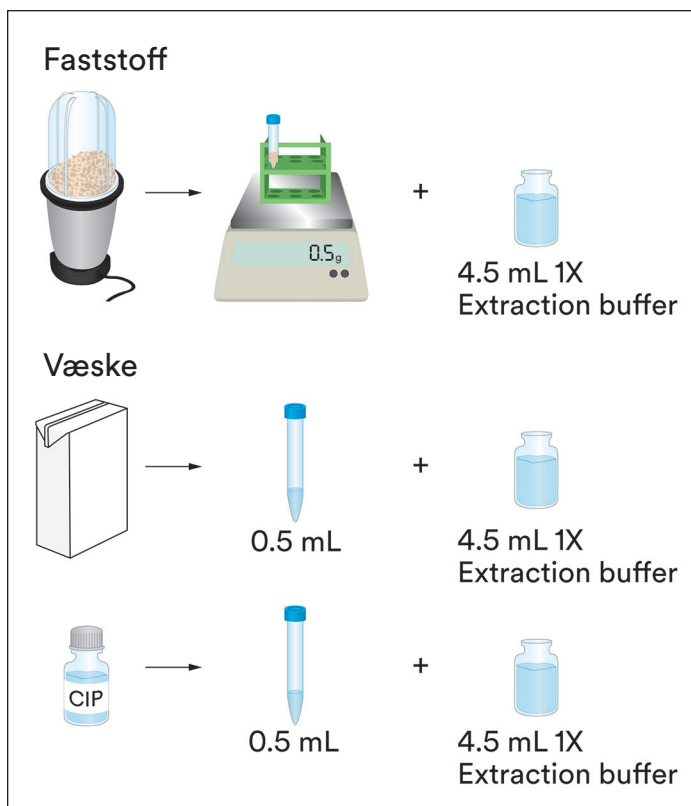
Prøvepreparering

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

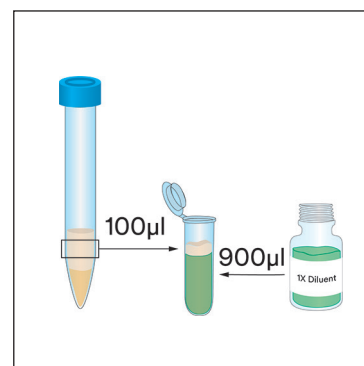
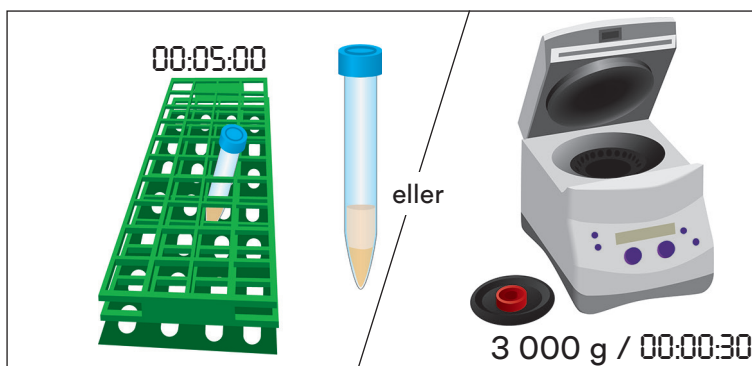
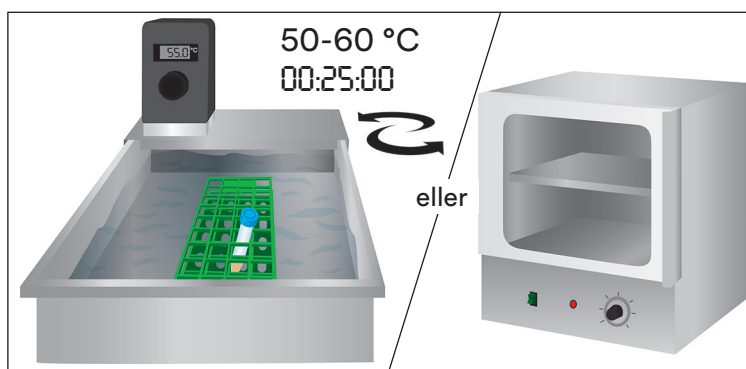
1.1 Preparer prøven for proteinutvinning i et rent reagensrør eller engangsrør som beskrevet i tabell 2.

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 rist 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 µl fortynningsbufferet (1X). Rør eller rist for å blande godt (dette tilsvarer en 1/100 fortynning av den opprinnelige prøven.)



ELISA-prosedyre

- 2.1 Ta en 3M ELISA-brønn pr. prøve og/eller standard og plasser brønnene i brønnholderen. Returner de ubrukte 3M ELISA-brønnene til folieposen, forsegle og sett tilbake til lagring ved 2–8 °C.
- 2.2 Bruk 3M™ mandelprotein standard konsentrat til å preparere et sett med fire standarder fortynnet i fortynningsbuffer (1X).

| Standard nummer | Standardkonsentrasjon (ng/ml) | Standardvolum tilsatt til 1X fortynningsmiddel | Volum av 1X fortynningsmiddel |
|-----------------|-------------------------------|--|-------------------------------|
| 4 | 270 | 10 µl av 3M mandelprotein 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 Pipetter 100 µl av hver standard i 3M ELISA-brønner.

- Standard 0 (1X fortynningsmiddelbuffer)
- 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 Pipetter 100 µl av den ekstraherte prøven tilberedt i 1.4 i en 3M ELISA-brønn.

- 2.5 Inkuber 3M ELISA-brønnene på en orbital-ristemaskin innstilt på 400 rpm 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 3M ELISA-brønnene etter inkuberingen.

- 2.7 Fyll fullstendig hver 3M 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.

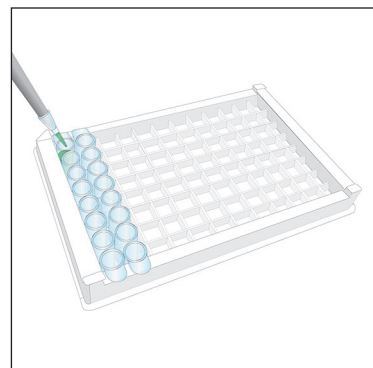
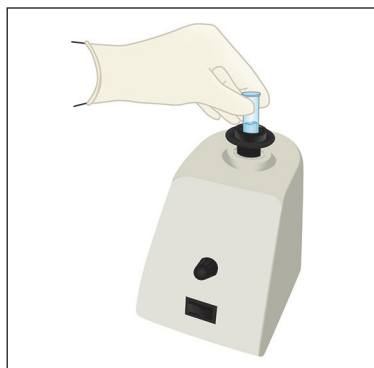
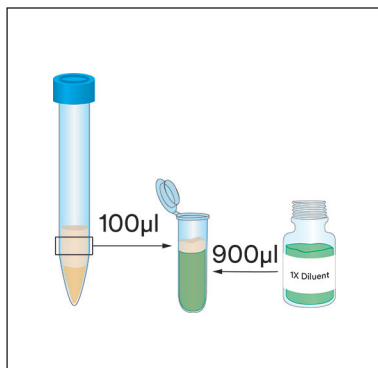
- 2.8 Pipette 100 µl av 1X mandel HRP-konjugat i hver 3M ELISA-brønn. Inkuber på en orbital-ristemaskin innstilt på 400 opm ved omgivelsestemperatur i 10 ± 2 minutter. Hold platen tildekket i mørket og plant under dette trinnet.

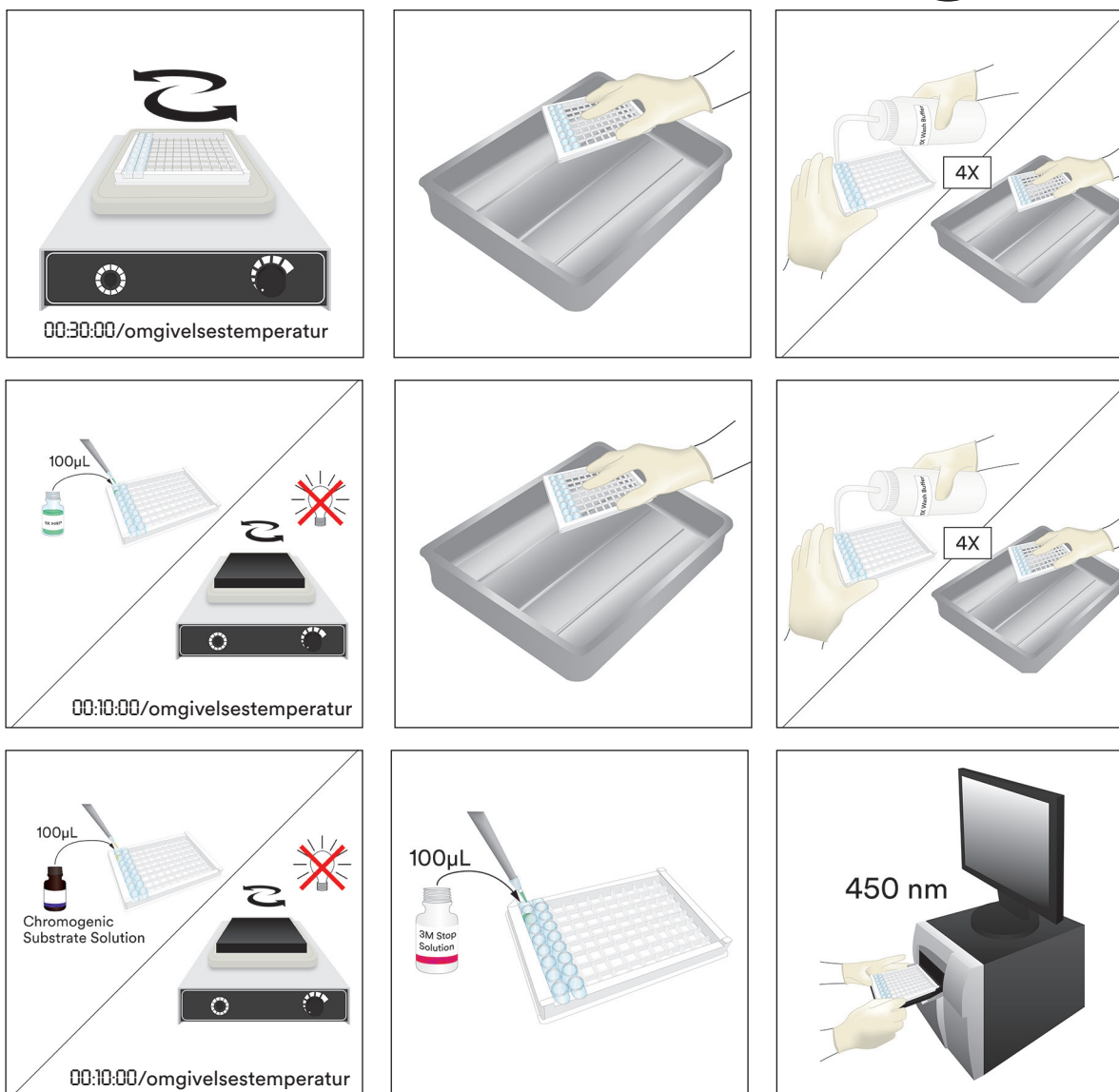
- 2.9 Gjenta trinn 2.6 og 2.7 for å fullføre totalt fire vasker med vaskeløsningen (1X).

- 2.10 Pipette 100 µl 3M kromogensubstratløsning (TMB) i hver 3M 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 3M stoppløsning i hver 3M 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 $200 \text{ ng/ml} \times 100 = 20\,000 \text{ ng/ml (ppb)}$ som er 20 µg/ml (ppm) .

Minimum ytelsesegenskaper

- a. Deteksjonsgrensen (LOD) er 1,9 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 sannsynlighetsnivå³. 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 på³.

Presisjon

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

Spesifisitet og kryssreaktivitet

Denne analysen gjenkjenner mandelprotein og ble testet mot forskjellige prøver for kryssreaktivitet (tabell 3).

Tabell 3. Kryssreaktivitet av 3M Mandelprotein ELISA Kit.

| Matriseprøve | % Kryssreaktivitet |
|------------------|--------------------|
| Mandelmel | (+) |
| Mandelmelk | (+) |
| BLG | <1 % |
| Bovint kasein | <1 % |
| Bovin melk | <1 % |
| Paranøtt | <1 % |
| Bokhvetemel | <1 % |
| Cashew | <1 % |
| Selleri | <1 % |
| Kikert | <1 % |
| Kokosnøttmel | <1 % |
| Kokosnøttmelk | <1 % |
| Maismel | <1 % |
| Fisk parvalbumin | <1 % |
| Hasselnøtt | <1 % |
| Limabønne | <1 % |
| Macadamianøtt | <1 % |
| Sennepsfrø | <1 % |
| Ovomukoid | <1 % |
| Erteekstrakt | <1 % |
| Peanøttmel | <1 % |
| Pekannøtt | <1 % |
| Pinjekjerne | <1 % |
| Pistasjemel | <1 % |
| Gresskarfrø | <1 % |
| Kamskjell | <1 % |
| Sesamfrø | <1 % |
| Reke | <1 % |
| Durramel | <1 % |
| Soyamel | <1 % |
| Soyamelk | <1 % |
| Solsikkefrø | <1 % |
| Valnøtt | <1 % |

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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

Instruções do Produto

Kit ELISA para Proteína de Amêndoa

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

Descrição e Uso recomendado do produto




O 3M™ Kit ELISA para Proteína de Amêndoa tem a finalidade de detectar proteínas de amêndoa em água de último enxágue do clean-in-place (CIP), amostras de swab do ambiente, ingredientes alimentares e alimentos processados.

O 3M Kit ELISA para Proteína de Amêndoa utiliza um ELISA sanduíche. As proteínas de amêndoa presentes na amostra reagem com o anticorpo anti-amêndoa, que foi adsorvido na superfície dos poços de microtitulação de poliestireno. Após a remoção através de enxágue, das proteínas não ligadas, são adicionados os anticorpos anti-amêndoa conjugados com peroxidase de rábano (HRP). Estes anticorpos marcados com enzimas formam complexos com a proteína de amêndoa 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 amêndoa na amostra testada; assim, a absorção, em 450 nm, é a medida da concentração de proteína de amêndoa na amostra de teste. A quantidade de proteína de amêndoa 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 3M Kit ELISA para Proteína de Amêndoa destina-se para uso em laboratório por profissionais treinados em técnicas laboratoriais. A 3M não documentou o uso deste produto em setores diferentes de alimentos e bebidas. Por exemplo, a 3M não documentou este produto para testar amostras farmacêuticas, de cosméticos, clínicas ou veterinárias. O 3M Kit ELISA para Proteína de Amêndoa não foi avaliado com todos os alimentos possíveis, processos alimentares e protocolos de teste.

O 3M Kit ELISA para Proteína de Amêndoa 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 |
|--|---|--|---|--|
| 3M™ Poços ELISA para Proteína de Amêndoa  | 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. |
| 3M™ de Amêndoa Conjugado com HRP (10X)  | Um frasco com 1,5 mL de anticorpo (10X) conjugado com HRP X10. | 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. |
| 3M™ Concentrado Padrão de Proteína de Amêndoa  | Um frasco com uma concentração conhecida de proteína de amêndoa. | Consulte a seção de Procedimento ELISA para preparação padrão. | 2 a 8°C. Não congele. | O 3M Concentrado Padrão de Proteína de Amêndoa fica estável até a data de validade do kit. |



| | | | | |
|---|---|---|--|--|
| 3M™ Diluente (5X)  | Uma frasco com 50 mL de Diluente 5X. | Diluir 1/5 imediatamente antes do uso para fazer uma solução de uso 1X. | 2 a 8°C | O 3M Diluente Tampão 5X fica estável até a data de validade do kit. |
| 3M™ Solução de Enxágue (20X)  | Uma 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 3M 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. |
| 3M™ 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 até 50 a 60°C antes do uso. | 2 a 8°C tanto para a solução de uso 1X quanto para o concentrado 3M Tampão de Extração 4X. | O Tampão de Extração 1X e o 3M Tampão de Extração 4X ficam estáveis até a data de validade do kit. |
| 3M™ 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 3M Solução de Substrato Cromogênico fica estável até a data de validade do kit. |
| 3M™ Solução de Bloqueio  | Uma frasco de 12 mL de ácido sulfúrico a 0,3 M. | Pronto para usar. | 2 a 8°C | A 3M 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 3M Kit ELISA para Proteína de Amêndoa. Guarde as instruções de segurança para consulta posterior.

⚠ 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 Laboratoriais¹ ou ISO 17025².
- 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 3M Solução de bloqueio, consulte a ficha de dados de segurança para informações adicionais de segurança.

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

- Armazene o 3M Kit ELISA para Proteína de Amêndoa conforme indicado na embalagem e nas instruções do produto.
- Utilize o 3M Kit ELISA para Proteína de Amêndoa para amostras de alimentos e ambiente que foram validados internamente ou por terceiros.
- Siga o protocolo e realize os testes exatamente conforme especificado nas instruções do produto.
- A 3M não documentou o uso do 3M Kit ELISA para Proteína de Amêndoa em setores diferentes de alimentos e bebidas. Por exemplo, a 3M 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 3M Kit ELISA para Proteína de Amêndoa até a data de validade.
- Sempre prepare as soluções de uso utilizando os reagentes concentrados do 3M Kit ELISA para Proteína de Amêndoa em temperatura entre 20 e 25°C.
- Não congele o 3M Concentrado Padrão de Proteína de Amêndoa.
- Se a solução de substrato cromogênico ficar azul, não a utilize. Siga Boas Práticas Laboratoriais¹ para evitar contaminação cruzada da 3M Solução de Substrato Cromogênico.

RECOMENDAÇÃO

Para reduzir os riscos associados com resultados inexatos:

- A estabilidade da amostra após extrações não foi avaliada. O procedimento ELISA deve ser realizado, logo após a extração da amostra.
- Manuseie o 3M Padrões de Proteína de Amêndoa seguindo Boas Práticas Laboratoriais¹ 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.3M.com/foodsafety ou entre em contato com nosso representante 3M ou distribuidor local.

Responsabilidade do usuário

Os usuários são responsáveis por se familiarizar com as instruções e informações do produto. Visite nosso website em www.3M.com/foodsafety, ou contate o seu representante ou distribuidor 3M local 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 3M Food Safety não constituem uma garantia da qualidade das matrizes ou processos com eles testados.



Limitações da Garantia

A 3M 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 3M Food Safety encontra-se defeituoso, a 3M ou seu distribuidor autorizado procederá, ao seu critério, à respectiva substituição ou restituição do dinheiro da compra do produto. Estes são os seus únicos termos de recurso. A 3M deverá ser prontamente notificada, dentro de sessenta dias da descoberta de qualquer defeito suspeito no produto e o mesmo deverá ser devolvido à 3M. Telefone para o Linha Aberta (0800-0132333) ou para o seu representante oficial da 3M Food Safety, a fim de obter uma Autorização de Devolução de Mercadoria.

Limitações de Responsabilidade da 3M

A 3M NÃO SERÁ RESPONSÁVEL POR QUAISQUER DANOS, SEJAM DIRETOS, INDIRETOS, ESPECIAIS, ACIDENTAIS OU SUBSEQÜENTES, 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 3M exceder o preço de compra dos produtos supostamente defeituosos.

Armazenamento e descarte

Armazene os conteúdos do 3M Kit ELISA para Proteína de Amêndoa entre 2 e 8°C. Não congele. Armazene soluções de uso diluídas conforme descrito na Tabela 1.

Os componentes do 3M Kit ELISA para Proteína de Amêndoa 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. 3M Tampão de Extração

Para preparar o Tampão de Extração 1X, adicione uma parte do 3M 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. 3M Solução Diluente

Para preparar a solução Diluente 1X, adicione uma parte do 3M 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. 3M Solução de Enxágue

Para preparar a Solução de Enxágue 1X, adicione uma parte da 3M Solução de Enxágue (20X) para 19 partes de água deionizada ou destilada. Cada 3M Poço ELISA precisa de aproximadamente 2,5 mL de Solução de Enxágue 1X.

Nota: A formação de cristais na 3M Solução de Enxágue (20X) pode ocorrer quando ela for armazenada entre 2 e 8°C. Para dissolver os cristais, aqueça a 3M Solução de Enxágue (20X) entre 30 e 35°C em banho-maria ou incubadora antes de preparar a Solução de Enxágue (1X).

d. 3M de Amêndoa Conjugado com HRP

Para preparar Amêndoa Conjugado com HRP, adicione uma parte de 3M de Amêndoa Conjugado com HRP (10X) e dilua em 9 partes de Solução Diluente 1X. Prepare imediatamente antes do uso. Cada 3M Poço ELISA precisa de 100 µL de Amêndoa Conjugado com HRP 1X.

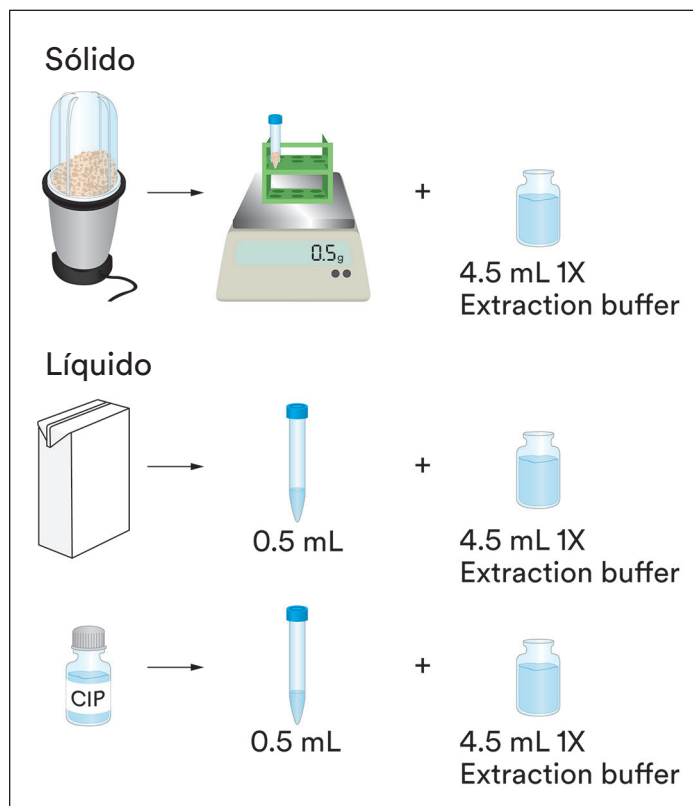
Preparo da amostra

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

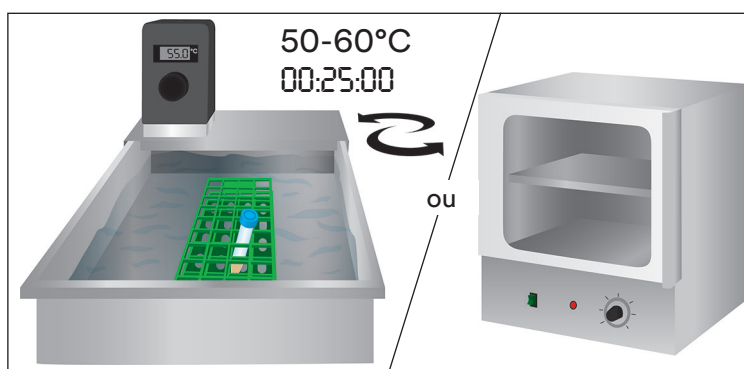
1.1 Prepare a amostra para extração da proteína em tubo de teste limpo ou descartável conforme descrito na Tabela 2.

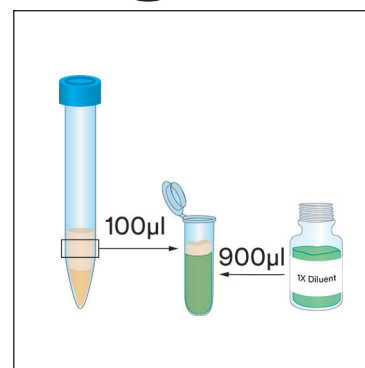
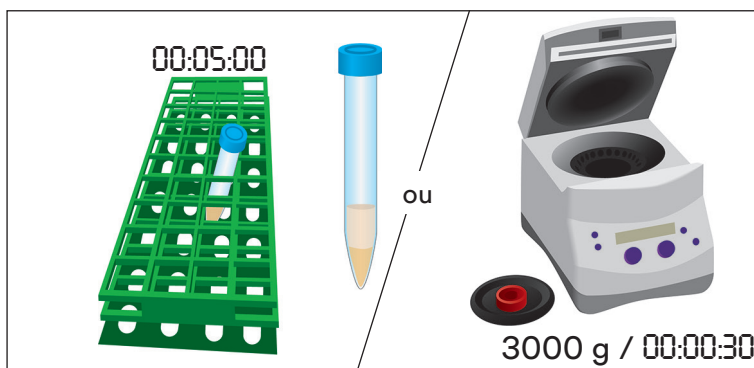
Tabela 2. Preparo da amostra

| Matriz de amostra | Tamanho da amostra | Diluição (1/10) |
|----------------------------|--------------------|---|
| Alimentos sólidos | $0,5 \pm 0,02$ g | Adicione $4,5 \pm 0,09$ de Tampão de Extração 1X pré-aquecido |
| Alimentos líquidos | $0,5 \pm 0,01$ mL | Adicione $4,5 \pm 0,09$ de Tampão de Extração 1X pré-aquecido |
| Última Água de Enxágue CIP | $0,5 \pm 0,01$ mL | Adicione $4,5 \pm 0,09$ 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 ($3000 \times g$) por 20 a 30 segundos para precipitar particulados ou permitir que eles decantem por 5 minutos em um estante de tubo de ensaio.
- 1.4 Colete 100 μ L da camada do meio (aquosa) e adicione-a a 900 μ L de Tampão 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 3M Poço ELISA por amostra e/ou padrão e coloque os poços no suporte de poços. Devolva os 3M 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 3M™ Concentrado Padrão de Proteína de Amêndoa, prepare um conjunto de quatro padrões diluídos em Tampão Diluente (1X).

| Número Padrão | Concentração Padrão (ng/mL) | Volume do padrão adicionado ao Diluente 1X | Volume de solução Diluente 1X |
|---------------|-----------------------------|---|-------------------------------|
| 4 | 270 | 10 µL de 3M Concentrado Padrão de Proteína de Amêndoa | 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 3M Poços ELISA.

- Padrão 0 (Tampão 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 em 1,4 em um 3M Poço ELISA.

- 2.5 Incubar 3M 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 3M Poços ELISA.

- 2.7 Preencha completamente cada 3M 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.

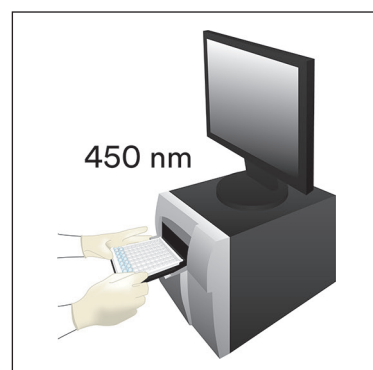
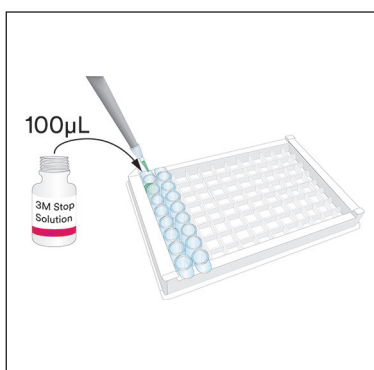
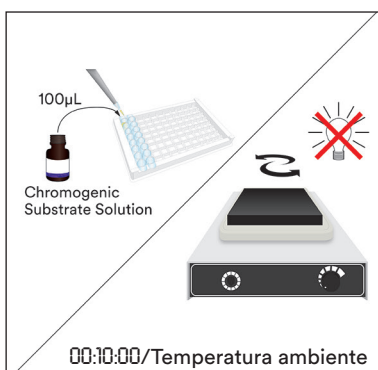
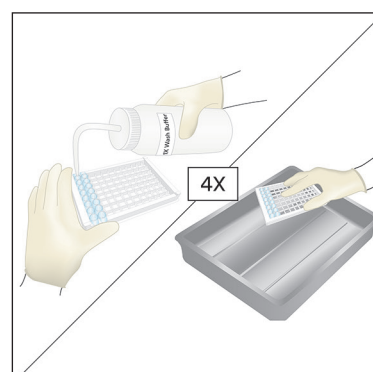
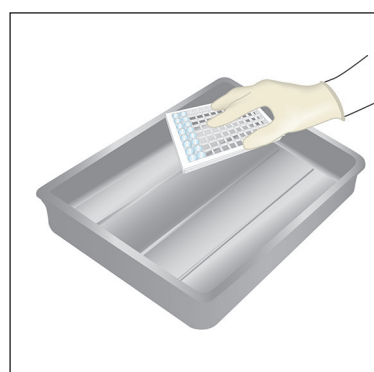
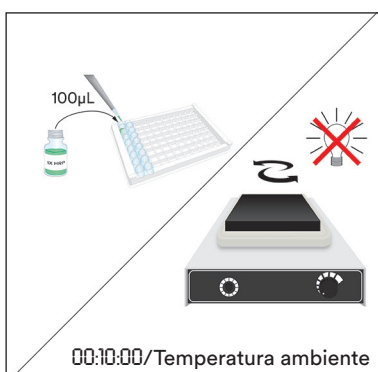
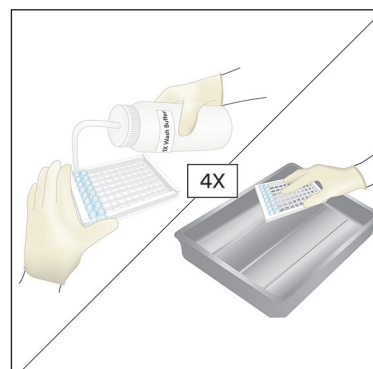
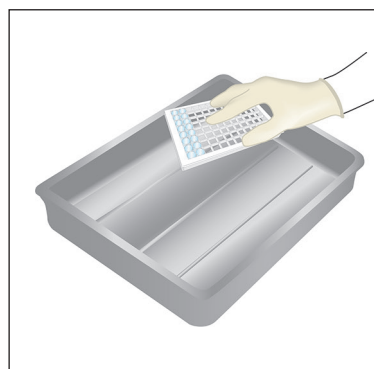
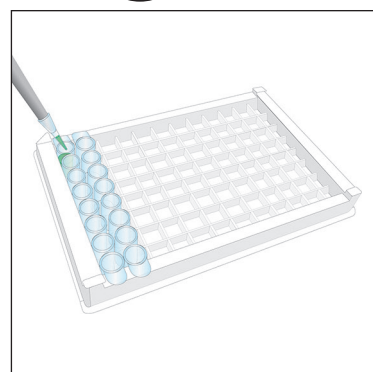
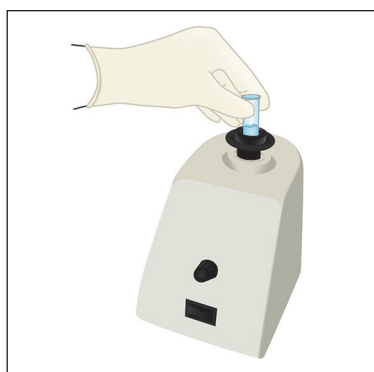
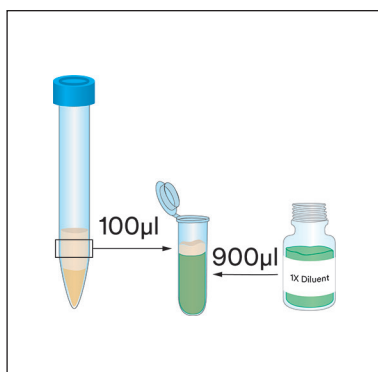
- 2.8 Pipetar 100 µL de Amêndoa Conjugada com HRP 1X em cada 3M Poço ELISA. Incubar em um agitador orbital a 400 rpm em temperatura ambiente por 10 ± 2 minutos. Mantenha a placa coberta no escuro e nivelada durante esta etapa.

- 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 3M Solução de Substrato Cromogênico (TMB) em cada 3M 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 3M Solução de bloqueio em cada 3M 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 $200 \text{ ng/mL} \times 100 = 20.000 \text{ ng/mL (ppb)}$ que é 20 µg/mL (ppm).

Características do Desempenho Mínimo

- a. O Limite de Detecção (LOD) é 1,9 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 especificado³. 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 específico³.

Precisão

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

Especificidade e Reatividade Cruzada

Este ensaio reconhece a proteína de amêndoa e foi testado em diversas amostras para reatividade cruzada (Tabela 3).

Tabela 3. Reatividade Cruzada do 3M Kit ELISA para Proteína de Amêndoa.

| Amostra matriz | % de reatividade cruzada |
|-----------------------|--------------------------|
| Farinha de amêndoa | (+) |
| Leite de Amêndoa | (+) |
| BLG | <1% |
| Caseína Bovina | <1% |
| Leite Bovino | <1% |
| Castanha do Pará | <1% |
| Farinha de Trigo | <1% |
| Caju | <1% |
| Aipo | <1% |
| Grão-de-bico | <1% |
| Farinha de Coco | <1% |
| Leite de Coco | <1% |
| Farinha de Milho | <1% |
| Parvalbumina de Peixe | <1% |
| Avelã | <1% |
| Feijão-de-Lima | <1% |
| Macadâmia | <1% |
| Semente de Mostarda | <1% |
| Ovomucóide | <1% |
| Extrato de Ervilha | <1% |
| Farinha de Amendoim | <1% |
| Noz Pecã | <1% |
| Pinhão | <1% |
| Farinha de Pistache | <1% |
| Semente de Abóbora | <1% |



| | |
|---------------------|-----|
| Vieira | <1% |
| Semente de Gergelim | <1% |
| Camarão | <1% |
| Farinha de Sorgo | <1% |
| Farinha de Soja | <1% |
| Leite de Soja | <1% |
| Semente de Girassol | <1% |
| Noz | <1% |

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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

Πληροφορίες Προϊόντος

Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου

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

Περιγραφή Προϊόντος και Σκοπός Χρήσης

Το 3M™ Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου προορίζεται για την ανίχνευση των πρωτεϊνών αμυγδάλου σε νερό τελικής έκπλυσης συστημάτων επιτόπιου καθαρισμού (CIP, clean-in-place), περιβαλλοντικά δείγματα, συστατικά τροφίμων και επεξεργασμένα προϊόντα τροφίμων.







Το 3M Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου χρησιμοποιεί δοκιμασία ELISA τύπου sandwich. Οι πρωτεΐνες αμυγδάλου που είναι παρούσες στο δείγμα αντιδρούν με τα αντισώματα αντι-αμυγδάλου, που έχουν απορροφηθεί στην επιφάνεια φρεατίων μικροτιτοποιητή πολυστυρολίου. Μετά την απομάκρυνση των αδέσμευτων πρωτεϊνών με πλύση, προστίθενται αντισώματα αντι-αμυγδάλου συζευγμένα με υπεροξειδάση αγριοραπανιού (HRP). Αυτά τα σημασμένα με ένζυμο αντισώματα σχηματίζουν σύμπλοκα με την προηγούμενως δεσμευμένη πρωτεΐνη αμυγδάλου. 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 αμυγδάλου στο εξεταζόμενο δείγμα· συνεπώς, η απορρόφηση, στα 450 nm, είναι ένα μέτρο της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης αμυγδάλου στο εξεταζόμενο δείγμα. Η ποσότητα της πρωτεΐνης αμυγδάλου 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 3M Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου προορίζεται για χρήση σε περιβάλλον εργαστηρίου από επαγγελματίες εκπαιδευμένους στις εργαστηριακές τεχνικές. Η 3M δεν έχει τεκμηριώσει τη χρήση αυτού του προϊόντος σε βιομηχανίες άλλες από εκείνες των τροφίμων και ποτών. Για παράδειγμα, η 3M δεν έχει τεκμηριώσει αυτό το προϊόν για τον έλεγχο δειγμάτων φαρμακευτικών προϊόντων, καλλυντικών, κλινικών ή κτηνιατρικών δειγμάτων. Το 3M Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου δεν έχει αξιολογηθεί με όλα τα πιθανά προϊόντα τροφίμων, διεργασίες επεξεργασίας τροφίμων και πρωτόκολλα δοκιμών.

Το 3M Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου περιέχει 96 φρεάτια, που περιγράφονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Συστατικά του κιτ

| Είδος | Ταυτοποίηση | Προπαρασκευή (βλ. την ενότητα "Προπαρασκευή Αντιδραστηρίων" για λεπτομέρειες) | Αποθήκευση | Σταθερότητα |
|--|--|---|--|--|
| 3M™ Φρεάτια Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου | 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 χρησιμοποιημένα φρεάτια και το ξηραντικό μέσο. Φυλάσσετε στους 2-8 °C για να διατηρηθεί η σταθερότητα μέχρι την ημερομηνία λήξης του κιτ. |

| | | | | |
|--|---|---|--|--|
| 3M™ Σύζευγμα Αμυγδάλου 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. |
| 3M™ Συμπύκνωμα Προτύπου Πρωτεΐνης Αμυγδάλου  | Ένα φιαλίδιο με γνωστή συγκέντρωση πρωτεΐνης αμυγδάλου. | Ανατρέξτε στην ενότητα "Διαδικασία ELISA" για την παρασκευή του προτύπου. | 2-8 °C. Να μην καταψύχεται. | Το 3M Συμπύκνωμα Προτύπου Πρωτεΐνης Αμυγδάλου είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης του κιτ. |
| 3M™ 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 3M Ρυθμιστικό Διάλυμα Αραιωτικού είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης του κιτ. |
| 3M™ 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 3M Διάλυμα Πλύσης είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης του κιτ. Το 1X Διάλυμα Πλύσης είναι σταθερό για τουλάχιστον μία εβδομάδα μετά την παρασκευή. |
| 3M™ 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 3M Ρυθμιστικού Διαλύματος Εκχύλισης. | Το 1X Ρυθμιστικό Διάλυμα Εκχύλισης και το 4X 3M Ρυθμιστικό Διάλυμα Εκχύλισης είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης του κιτ. |
| 3M™ 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 3M Διάλυμα Χρωμογόνου Υποστρώματος είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης του κιτ. |
| 3M™ Διάλυμα Διακοπής  | Μία φιάλη με 12 mL 0,3 M θειικού οξέος. | Έτοιμο για χρήση. | 2-8 °C | Το 3M 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 3M Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου. 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 εκπαιδευθεί το προσωπικό του στις τρέχουσες ορθές τεχνικές ελέγχου, για παράδειγμα, Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές¹ ή ISO 17025².
- 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 3M 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 3M Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου σύμφωνα με τις υποδείξεις στη συσκευασία και στις πληροφορίες προϊόντος.
- Χρησιμοποιείτε το 3M Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου 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 3M δεν έχει τεκμηριώσει τη χρήση του 3M Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου σε βιομηχανίες άλλες από εκείνες των τροφίμων και ποτών. Για παράδειγμα, η 3M 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 3M Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου μέχρι την ημερομηνία λήξης.
- Παρασκευάζετε πάντα τα διαλύματα εργασίας χρησιμοποιώντας τα συμπυκνωμένα αντιδραστήρια του 3M Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου σε θερμοκρασία 20-25 °C.
- Μην καταψύχετε το 3M Συμπύκνωμα Προτύπου Πρωτεΐνης Αμυγδάλου.
- Εάν το Διάλυμα Χρωμογόνου Υποστρώματος γίνει μπλε, μην το χρησιμοποιήσετε. Ακολουθείτε Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές¹ για να αποφύγετε την αλληλομόλυνση του 3M Διαλύματος Χρωμογόνου Υποστρώματος.

ΥΠΟΔΕΙΞΗ

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με ανακριβή αποτελέσματα:

- Η σταθερότητα του δείγματος μετά τις εκχυλίσσεις δεν έχει αξιολογηθεί. Η διαδικασία ELISA πρέπει να διενεργείται αμέσως μετά την εκχύλιση του δείγματος.

- Χειρίζεστε τα 3M Πρότυπα Πρωτεΐνης Αμυγδάλου σύμφωνα με τις Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές¹ 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.3M.com/foodsafety ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή διανομέα της 3M.

ΕΥΘΥΝΗ ΤΟΥ ΧΡΗΣΤΗ

Οι χρήστες είναι υπεύθυνοι να εξοικειωθούν με τις οδηγίες και τις πληροφορίες του προϊόντος. Επισκεφθείτε την ιστοσελίδα μας στη διεύθυνση www.3M.com/foodsafety, ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή διανομέα της 3M 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 3M Food Safety δεν συνιστούν εγγύηση της ποιότητας των μητρών ή των διαδικασιών που υποβάλλονται σε έλεγχο.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΓΓΥΗΣΕΩΝ / ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΗ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

ΕΚΤΟΣ ΕΑΝ ΔΗΛΩΝΕΤΑΙ ΡΗΤΑ ΣΕ ΜΙΑ ΕΝΟΤΗΤΑ ΓΙΑ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΗ ΕΓΓΥΗΣΗ ΣΤΗΝ ΑΤΟΜΙΚΗ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ, Η 3M ΑΠΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΟΛΕΣ ΤΙΣ ΡΗΤΕΣ ΚΑΙ ΕΝΝΟΟΥΜΕΝΕΣ ΕΓΓΥΗΣΕΙΣ, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΑΛΛΑ ΟΧΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΑ, ΟΠΟΙΩΝΔΗΠΟΤΕ ΕΓΓΥΗΣΕΩΝ ΕΜΠΟΡΕΥΣΙΜΟΤΗΤΑΣ Ή ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΤΗΤΑΣ ΓΙΑ ΜΙΑ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ. Εάν οποιοδήποτε προϊόν 3M Food Safety είναι ελαττωματικό, η 3M ή ο εξουσιοδοτημένος διανομέας της, κατά την κρίση τους, θα αντικαταστήσουν ή επιστρέψουν την τιμή αγοράς του προϊόντος. Αυτές είναι οι αποκλειστικές σας αποκαταστάσεις. Πρέπει άμεσα και εντός εξήντα ημερών να γνωστοποιήσετε στην 3M την ανακάλυψη των πιθανολογούμενων ελαττωμάτων του προϊόντος και να επιστρέψετε το προϊόν στην 3M. Παρακαλούμε καλέστε την υπηρεσία εξυπηρέτησης πελατών (010-6885300 στην Ελλάδα) ή τον επίσημο αντιπρόσωπο Ασφάλειας Τροφίμων της 3M για την Έγκριση Επιστροφής Προϊόντων.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΥΘΥΝΗΣ 3M

Η 3M ΔΕΝ ΕΥΘΥΝΕΤΑΙ ΓΙΑ ΟΠΟΙΑΔΗΠΟΤΕ ΑΠΩΛΕΙΑ Ή ΖΗΜΙΑ, ΕΙΤΕ ΑΜΕΣΗ, ΕΜΜΕΣΗ, ΕΙΔΙΚΗ, ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΗ Ή ΑΠΟΘΕΤΙΚΗ ΖΗΜΙΑ, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ, ΑΛΛΑ ΟΧΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΑ, ΔΙΑΦΥΓΟΝΤΩΝ ΚΕΡΔΩΝ. Η ευθύνη της 3M 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 3M Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου στους 2-8 °C. Να μην καταψύχεται. Φυλάσσετε τα αραιωμένα διαλύματα εργασίας όπως περιγράφεται στον Πίνακα 1.

Τα συστατικά του 3M Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου 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. 3M Ρυθμιστικό Διάλυμα Εκχύλισης

Για να παρασκευάσετε 1X Ρυθμιστικό Διάλυμα Εκχύλισης, προσθέστε ένα μέρος 3M 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. 3M Διάλυμα Αραιωτικού

Για να παρασκευάσετε διάλυμα 1X Αραιωτικού, προσθέστε ένα μέρος 3M Αραιωτικού (5X) σε τέσσερα μέρη απιονισμένου ή απεσταγμένου νερού. Κάθε δείγμα απαιτεί ένα σύνολο 4,5 mL διαλύματος 1X Αραιωτικού.

γ. 3M Διάλυμα Πλύσης

Για να παρασκευάσετε 1X Διάλυμα Πλύσης, προσθέστε ένα μέρος 3M Διαλύματος Πλύσης (20X) σε 19 μέρη απιονισμένου ή απεσταγμένου νερού. Κάθε 3M Φρεάτιο Δοκιμασίας ELISA απαιτεί περίπου 2,5 mL 1X Διαλύματος Πλύσης.

Σημείωση: Ο σχηματισμός κρυστάλλων στο 3M Διάλυμα Πλύσης (20X) μπορεί να συμβεί εάν φυλαχθεί στους 2-8 °C. Για να διαλύσετε τους κρυστάλλους, θερμάνετε το 3M Διάλυμα Πλύσης (20X) στους 30-35 °C σε υδατόλουτρο ή επωαστήρα πριν παρασκευάσετε το Διάλυμα Πλύσης (1X).

δ. 3M Σύζευγμα Αμυγδάλου HRP

Για να παρασκευάσετε 1X Σύζευγμα Αμυγδάλου HRP, προσθέστε ένα μέρος 3M Συζεύγματος Αμυγδάλου HRP (10X) και αραιώστε σε 9 μέρη διαλύματος 1X Αραιωτικού. Παρασκευάστε αμέσως πριν τη χρήση. Κάθε 3M Φρεάτιο Δοκιμασίας ELISA απαιτεί 100 μL 1X Συζεύγματος HRP Αμυγδάλου.

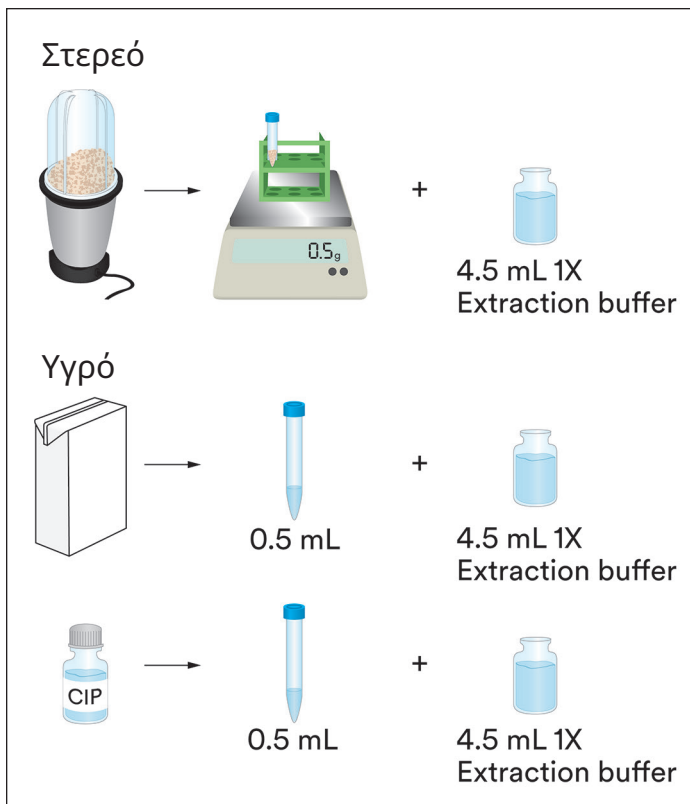
Προπαρασκευή Δείγματος

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

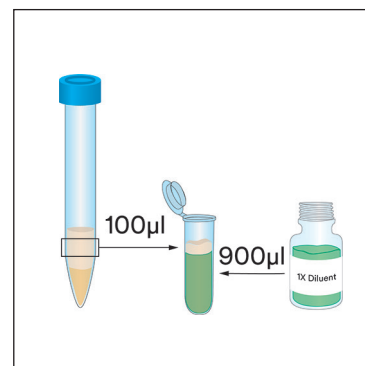
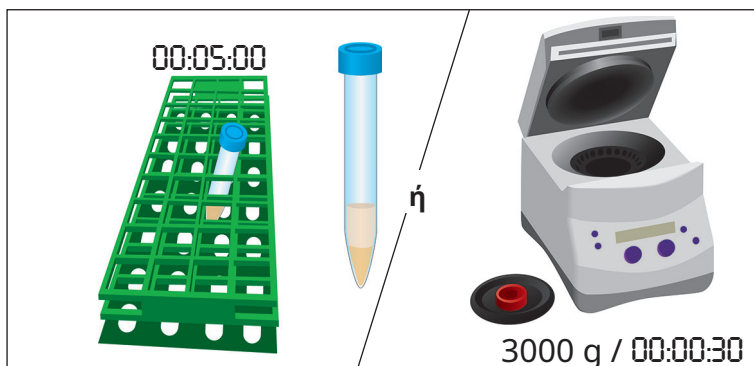
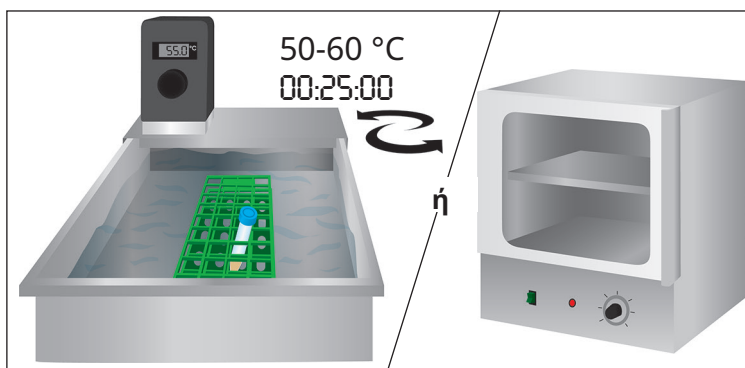
1.1 Παρασκευάστε το δείγμα για εκχύλιση πρωτεΐνης σε ένα καθαρό δοκιμαστικό σωληνάριο ή αναλώσιμο σωληνάριο όπως περιγράφεται στον Πίνακα 2.

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 Επώστε 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 Ρυθμιστικού Διαλύματος Αραιωτικού (1X). Αναδεύστε σε αναδευτήρα τύπου vortex ή ανακινήστε για να αναμείξετε καλά (Αυτό αντιστοιχεί σε αραιώση 1/100 του αρχικού δείγματος.)

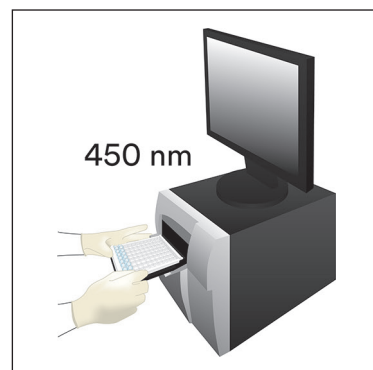
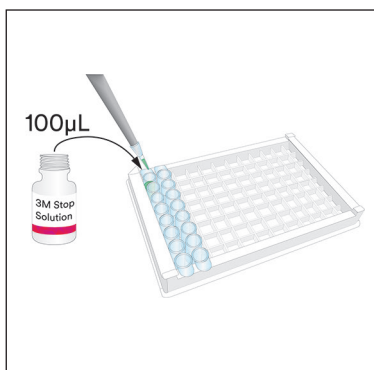
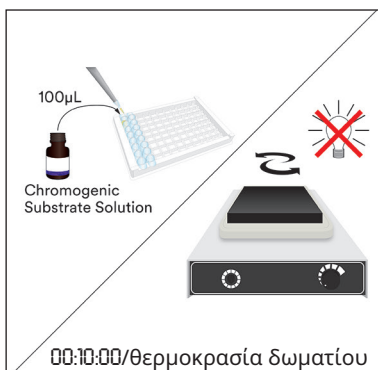
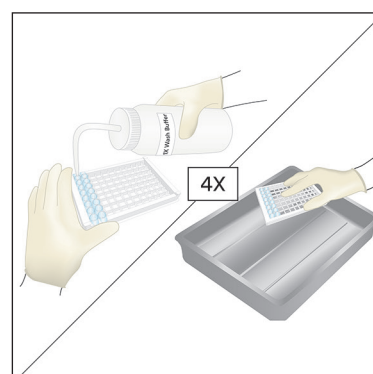
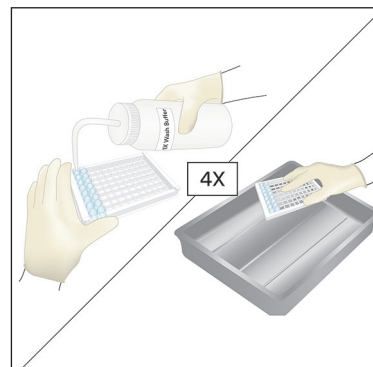
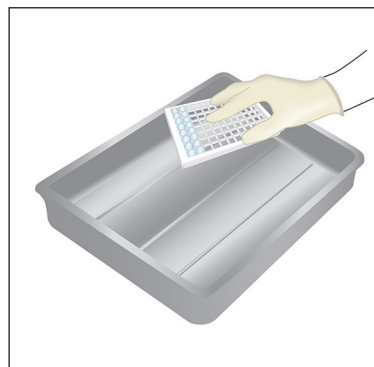
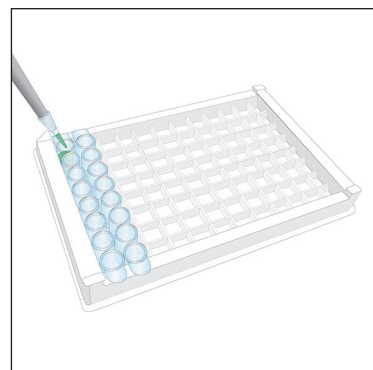
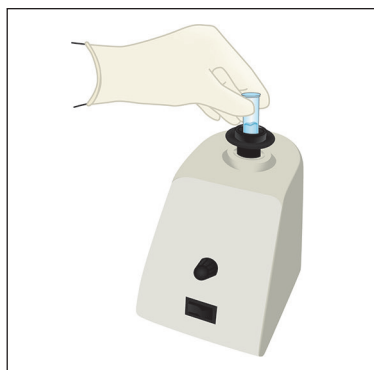
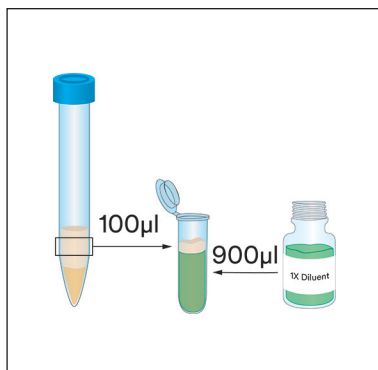


Διαδικασία ELISA

- 2.1 Αφαιρέστε ένα 3Μ Φρεάτιο Δοκιμασίας ELISA ανά δείγμα ή/και πρότυπο και τοποθετήστε τα φρεάτια στον συγκρατητήρα φρεατίων. Επιστρέψτε τα αχρησιμοποίητα 3Μ Φρεάτια Δοκιμασίας ELISA στο αλουμινένιο σακουλάκι, επανασφραγίστε και θέστε εκ νέου σε φύλαξη στους 2-8 °C.
- 2.2 Χρησιμοποιώντας το 3Μ™ Συμπύκνωμα Πρότυπου Πρωτεΐνης Αμυγδάλου, παρασκευάστε ένα σετ τεσσάρων προτύπων αραιωμένων σε Ρυθμιστικό Διάλυμα Αραιωτικού (1X).

| Αριθμός Πρότυπου | Συγκέντρωση Πρότυπου (ng/mL) | Όγκος προτύπου που προστέθηκε στο 1X Αραιωτικό | Όγκος του διαλύματος 1X Αραιωτικού |
|------------------|------------------------------|--|------------------------------------|
| 4 | 270 | 10 μ L 3Μ Συμπυκνώματος Πρότυπου Πρωτεΐνης Αμυγδάλου | 990 μ L |
| 3 | 90 | 200 μ L προτύπου αριθμός 4 | 400 μ L |
| 2 | 30 | 200 μ L προτύπου αριθμός 3 | 400 μ L |
| 1 | 10 | 200 μ L προτύπου αριθμός 2 | 400 μ L |
| 0 | 0 | 0 | 400 μ L |

- 2.3 Μεταφέρετε με πιπέτα 100 μ L κάθε προτύπου σε 3Μ Φρεάτια Δοκιμασίας ELISA.
- Πρότυπο 0 (1X Ρυθμιστικό 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 μ L του εκχυλισμένου δείγματος που παρασκευάστηκε στο βήμα 1.4 σε ένα 3Μ Φρεάτιο Δοκιμασίας ELISA.
- 2.5 Επώστε τα 3Μ φρεάτια δοκιμασίας ELISA σε ανακινητήρα με ελλειψοειδή κίνηση ρυθμισμένο σε 400 rpm σε θερμοκρασία δωματίου (20-25 °C) για 30 \pm 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 επώση, αναρροφήστε τα περιεχόμενα των 3Μ Φρεατίων Δοκιμασίας ELISA.
- 2.7 Γεμίστε τελείως κάθε 3Μ 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 μ L 1X Συζεύγματος Αμυγδάλου HRP σε κάθε 3Μ Φρεάτιο Δοκιμασίας ELISA. Επώστε σε ανακινητήρα με ελλειψοειδή κίνηση ρυθμισμένο σε 400 rpm σε θερμοκρασία δωματίου για 10 \pm 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 μ L 3Μ Διαλύματος Χρωμογόνου Υποστρώματος (TMB) σε κάθε 3Μ Φρεάτιο Δοκιμασίας ELISA.
- 2.11 Επώστε 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 επώση, προσθέστε 100 μ L 3Μ Διαλύματος Διακοπής σε κάθε 3Μ 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 $200 \text{ ng/mL} \times 100 = 20.000 \text{ ng/mL (ppb)}$, το οποίο είναι 20 µg/mL (ppm).

Ελάχιστα Χαρακτηριστικά Απόδοσης

- α. Το Όριο Ανίχνευσης (LOD) είναι 1,9 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 πιθανότητας³. Προσδιορίζεται προσθέτοντας τρεις τυπικές αποκλίσεις στην τιμή μέσης οπτικής πυκνότητας σάραντα 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 πιστότητας³.

Ακρίβεια

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

Εξειδίκευση και διασταυρούμενη αντιδραστικότητα

Αυτή η δοκιμασία αναγνωρίζει την πρωτεΐνη αμυγδάλου και έχει ελεγχθεί έναντι διαφόρων δειγμάτων για διασταυρούμενη αντιδραστικότητα (Πίνακας 3.)

Πίνακας 3. Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα του 3M Κιτ Δοκιμασίας ELISA Πρωτεΐνης Αμυγδάλου.

| Πίνακας Δείγματος | % διασταυρούμενη αντιδραστικότητα |
|-----------------------|-----------------------------------|
| Αλεύρι αμυγδάλου | (+) |
| Γάλα αμυγδάλου | (+) |
| β-λακτοσφαιρίνη (BLG) | <1% |
| Καζεΐνη βοοειδών | <1% |
| Γάλα βοοειδών | <1% |
| Καρύδι Βραζιλίας | <1% |
| Αλεύρι Μαύρου Σίτου | <1% |
| Κάσιους | <1% |
| Σέλινο | <1% |
| Ρεβίθι | <1% |
| Αλεύρι Καρύδας | <1% |
| Γάλα Καρύδας | <1% |
| Αλεύρι Αραβοσίτου | <1% |
| Παρβαλβουμίνη Ιχθύων | <1% |
| Φουντούκι | <1% |
| Φασόλι Λίμα | <1% |
| Καρύδι Μακαντάμια | <1% |
| Σιναπόσπορος | <1% |

| | |
|----------------------------|-----|
| Ωοβλεννοειδές | <1% |
| Εκχύλισμα Μπιζελίου | <1% |
| Αλεύρι Αραχίδων | <1% |
| Καρύδι Πεκάν | <1% |
| Κουκουναρόσπορος | <1% |
| Αλεύρι από Φιστίκι Αιγίνης | <1% |
| Κολοκυθόσπορος | <1% |
| Χτένι | <1% |
| Σπόρος Σησαμιού | <1% |
| Γαρίδα | <1% |
| Αλεύρι Σόργου | <1% |
| Αλεύρι Σόγιας | <1% |
| Γάλα Σόγιας | <1% |
| Ηλιόσπορος | <1% |
| Καρύδι | <1% |

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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

Informacje o produkcie

Zestaw ELISA do wykrywania białek obecnych w migdałach

Test immunoenzymatyczny (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) do analizy ilościowej białek migdała.

Opis i przeznaczenie produktu



3M™ Zestaw ELISA do wykrywania białek obecnych w migdałach jest przeznaczony do wykrywania obecności białek migdała w wodzie pochodzącej z ostatniego etapu płukania w systemie CIP (Clean-in-place), próbkach środowiskowych, surowcach i w żywności przetworzonej.

W 3M Zestawie ELISA do wykrywania białek obecnych w migdałach wykorzystywana jest metoda Sandwich ELISA. Białka migdała obecne w próbce reagują z przeciwciałem przeciwko migdałom zaabsorbowanym na powierzchni studzienek do mikromiareczkowania z polistyrenu. Po usunięciu niezwiązanych białek przez wypłukanie dodaje się przeciwciała przeciwko migdałom sprzężone z peroksydazą chrzanową (HRP). Takie znakowane enzymem przeciwciała tworzą kompleksy z wcześniej związanym białkiem migdała. 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 migdała w badanej próbce; w związku z tym absorbancja na poziomie 450 nm stanowi miarę stężenia białek migdała w badanej próbce. Ilość białek migdała w badanej próbce można wyekstrapolować ze standardowej krzywej utworzonej ze standardów znanego stężenia i dostosowanej w sposób uwzględniający rozcieńczenie próbek.







3M Zestaw ELISA do wykrywania białek obecnych w migdałach jest przeznaczony do stosowania w środowisku laboratoryjnym przez specjalistów stosownie przeszkolonych w zakresie praktyk laboratoryjnych. Firma 3M nie udokumentowała zastosowania tego produktu w gałęziach przemysłu innych niż żywność i napoje. Przykładowo firma 3M nie udokumentowała zastosowania tego produktu do badania próbek leków, kosmetyków, próbek klinicznych ani weterynaryjnych. 3M Zestaw ELISA do wykrywania białek obecnych w migdałach nie został zwalidowany w odniesieniu do wszystkich możliwych produktów spożywczych, procesów przetwarzania żywności i protokołów testowych.

3M Zestaw ELISA do wykrywania białek obecnych w migdałach 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 |
|---|--|---|---|---|
| 3M™ Studzienki do oznaczania białek migdała 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. |
| 3M™ Koniugat HRP do oznaczania migdałów (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. |



| | | | | |
|---|---|---|--|--|
| 3M™ Standardowy koncentrat do oznaczania białek migdała  | Jedna fiołka o znanym stężeniu białek migdała. | Informacje na temat standardowego sposobu przygotowania można znaleźć w sekcji Procedura ELISA. | 2–8°C. Nie zamrażać. | 3M Standardowy koncentrat do oznaczania białek migdała zachowuje stabilność aż do terminu ważności zestawu. |
| 3M™ 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 | 3M Bufor rozcieńczalnika 5X zachowuje stabilność aż do terminu ważności zestawu. |
| 3M™ 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. | 3M Roztwór myjący 20X zachowuje stabilność aż do terminu ważności zestawu. Roztwór myjący 1X zachowuje stabilność przez okres co najmniej jednego tygodnia od momentu przygotowania. |
| 3M™ 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 3M koncentratu buforu do ekstrakcji 4X. | Bufor do ekstrakcji 1X oraz 3M Bufor rozcieńczalnika 4X zachowują stabilność aż do terminu ważności zestawu. |
| 3M™ Roztwór substratu chromogenicznego  | Jedna butelka zawierająca 12 ml 3,3',5,5'-tetrametylobenzyny (TMB). | Gotowe do użycia. | 2–8°C w ciemnym miejscu. | Chronić przed światłem. 3M Roztwór substratu chromogenicznego zachowuje stabilność aż do terminu ważności zestawu. |
| 3M™ Roztwór zatrzymujący reakcję  | Jedna butelka zawierająca 12 ml kwasu siarkowego 0,3 M. | Gotowe do użycia. | 2–8°C | 3M 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 3M Zestawu ELISA do wykrywania białek obecnych w migdałach. 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 Laboratoryjnej¹ lub ISO 17025².
- Należy zawsze przestrzegać standardowych laboratoryjnych praktyk bezpieczeństwa, łącznie z noszeniem odpowiedniej odzieży i okularów ochronnych przy pracy z reagentami.
- Należy unikać kontaktu skóry z 3M 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:

- 3M Zestaw ELISA do wykrywania białek obecnych w migdałach należy przechowywać w sposób podany na opakowaniu i w informacjach o produkcie.
- 3M Zestaw ELISA do wykrywania białek obecnych w migdałach 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 3M nie udokumentowała zastosowania 3M Zestawu ELISA do wykrywania białek obecnych w migdałach w gałęziach przemysłu innych niż żywność i napoje. Przykładowo firma 3M 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 3M Zestawu ELISA do wykrywania białek obecnych w migdałach z ważnym terminem ważności.
- Roztwory robocze należy zawsze przechowywać przy użyciu stężonych reagentów 3M Zestawu ELISA do wykrywania białek obecnych w migdałach w temperaturze 20–25°C.
- Standardowego koncentratu do oznaczania białek migdała 3M nie należy zamrażać.
- Jeśli kolor roztworu substratu chromogenicznego zmieni się na niebieski, nie należy go używać. W celu uniknięcia krzyżowego zanieczyszczenia 3M roztworu substratu chromogenicznego należy przestrzegać zasad Dobrej Praktyki Laboratoryjnej¹.

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 migdała 3M należy obsługiwać przy zastosowaniu Dobrych Praktyk Laboratoryjnych¹.

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.3M.com/foodsafety lub skontaktowania się z lokalnym przedstawicielem lub dystrybutorem firmy 3M.

Obowiązki Użytkownika

Użytkownicy są odpowiedzialni za zapoznanie się z instrukcjami oraz informacjami dotyczącymi produktu. W celu uzyskania dodatkowych informacji zapraszamy do odwiedzenia naszej strony internetowej pod adresem www.3M.com/foodsafety lub zachęcamy do skontaktowania się z lokalnym przedstawicielem lub dystrybutorem firmy 3M.

Jak ze wszystkimi metodami testów używanymi do analizy spożywczej, matryca testowa może wpłynąć na wyniki testu. Przy wyborze metody testowania należy mieć na uwadze, że takie czynniki zewnętrzne, jak metody próbkowania, protokoły testowania, przygotowanie próbek, 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 dopilnować, aby zastosowane metody testowania i uzyskane wyniki spełniały wymagania klienta i dostawcy.

Tak jak w przypadku każdej metody testowania, wyniki uzyskiwane za pomocą produktu Bezpieczeństwa żywności 3M nie stanowią gwarancji jakości testowanych matryc lub procesów.

Wyłączenia Gwarancji / Ograniczone Środki Zaradcze

JEŚLI NIE ZOSTAŁO TO WYRAŹNIE OKREŚLONE W ROZDZIALE DOT. POJEDYNCZYCH OPAKOWAŃ PRODUKTÓW OGRANICZONEJ GWARANCJI, 3M WYŁĄCZA ODPOWIEDZIALNOŚĆ WSZYSTKICH GWARANCJI W SPOSÓB JAWNY ORAZ DOROZUMIANY, W TYM MIĘDZY INNYMI, DOWOLNYCH GWARANCJI ZGODNOŚCI Z PRZEZNACZENIEM I PRZYDATNOŚCI DO OKREŚLONEGO CELU. Jeśli zostanie dowiedzione, że jakiegokolwiek produkt Bezpieczeństwa żywności 3M jest wadliwy, firma 3M lub jej autoryzowany dystrybutor wymieni lub, według uznania, zwróci koszty zakupu tego produktu. Są to jedyne przysługujące środki zaradcze. W ciągu 60 dni od wykrycia jakiegokolwiek podejrzanego wady produktu należy niezwłocznie powiadomić firmę 3M oraz zwrócić produkt. W celu uzyskania informacji na temat procedury zwrotu towarów (RGA) należy skontaktować się z biurem obsługi klienta (1-800-328-1671 na terenie USA) lub z oficjalnym przedstawicielem ds. bezpieczeństwa żywności firmy 3M.

Ograniczenie Odpowiedzialności Firmy 3M

3M NIE BĘDZIE ODPOWIEDZIALNA ZA JAKIEKOLWIEK SZKODY LUB STRATY, ZARÓWNO BEZPOŚREDNIE, POŚREDNIE, SZCZEGÓLNE, UBOCZNE LUB NASTĘPCZE, W TYM MIĘDZY INNYMI ZA UTRACONE ZYSKI. W żadnym wypadku odpowiedzialność firmy 3M przyznana na mocy prawa nie może przekroczyć ceny zakupu produktu, wobec którego domniemywa się, że jest wadliwy.

Przechowywanie i utylizacja

Zawartość 3M Zestawu ELISA do wykrywania białek obecnych w migdałach należy przechowywać w temp. 2–8°C. Nie zamrażać. Rozcieńczone roztwory robocze należy przechowywać w sposób opisany w Tabeli 1.

Komponentów 3M Zestawu ELISA do wykrywania białek obecnych w migdałach 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. 3M Bufor do ekstrakcji

W celu przygotowania buforu do ekstrakcji 1X należy dodać jedną część 3M 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 kąpeli wodnej lub inkubatorze wstrząsowym. Na każdą próbkę potrzebne jest 4,5 ml buforu do ekstrakcji 1X.

b. 3M Roztwór rozcieńczający

W celu przygotowania roztworu rozcieńczającego 1X należy dodać jedną część 3M rozcieńczalnika (5X) na cztery części wody dejonizowanej lub destylowanej. Na każdą próbkę potrzebne jest łącznie 4,5 ml roztworu rozcieńczającego 1X.

c. 3M Roztwór myjący

W celu przygotowania roztworu myjącego 1X należy dodać jedną część 3M roztworu myjącego (20X) na 19 części wody dejonizowanej lub destylowanej. Na każdą studzienkę 3M ELISA potrzebne jest około 2,5 ml roztworu myjącego 1X.

Uwaga: W przypadku przechowywania 3M 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 3M roztwór myjący (20X) do temp. 30–35°C w kąpiel wodnej lub inkubatorze.

d. 3M Koniugat HRP do oznaczania migdałów

W celu przygotowania koniugatu HRP do oznaczania migdałów 1X należy dodać jedną część 3M koniugatu HRP do oznaczania migdałów (10X) i rozcieńczyć ją w 9 częściach roztworu rozcieńczającego 1X. Przygotować bezpośrednio przed użyciem. Na każdą studzienkę 3M ELISA potrzebne jest 100 µl koniugatu HRP do oznaczania migdałów 1X.

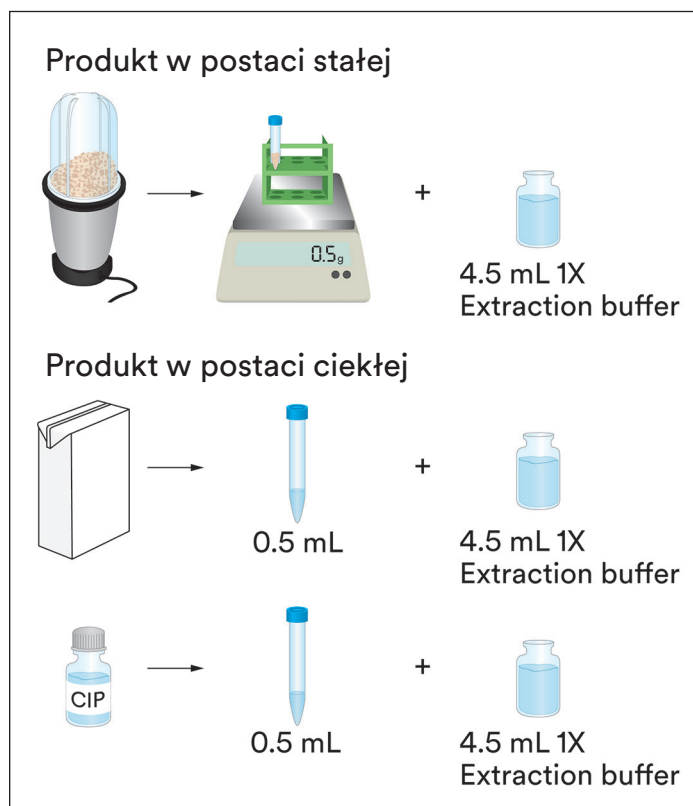
Przygotowanie próbek

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.

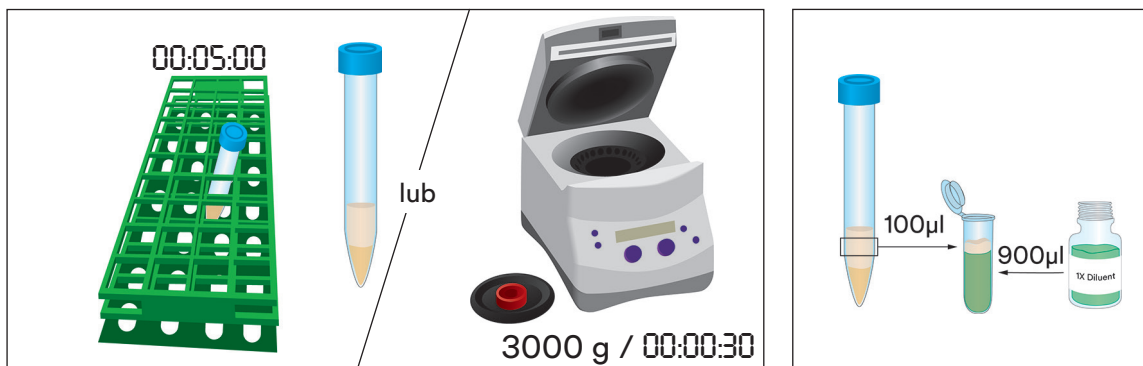
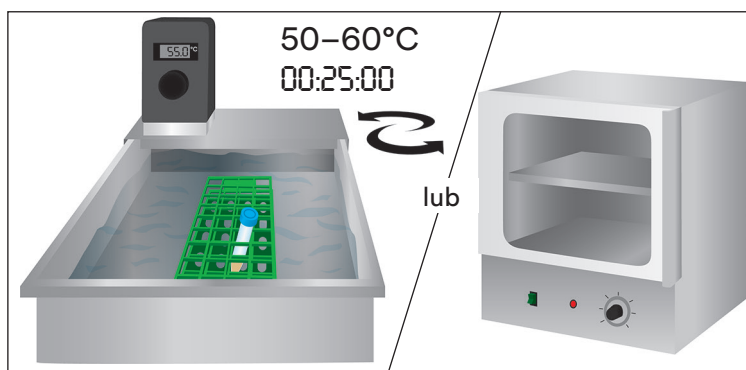
Tabela 2. Przygotowanie próbek

| 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 kąpiel wodnej lub inkubatorze wstrząsowym w temp. 50–60°C przez 25 ± 1 minut. Inny sposób polega na pozostawieniu próbek w kąpiel wodnej lub inkubatorze w temp. 50–60°C i wstrząsać 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 próbki testowe.

- 1.4 Pobrać 100 μ l ze środkowej (wodnej) warstwy i dodać je do 900 μ l buforu 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 3M na próbkę i/lub standardowy roztwór i umieścić studzienki w uchwycie na studzienki. Niewykorzystane studzienki ELISA 3M należy umieścić z powrotem w foliowym woreczku i ponownie odłożyć w miejsce przechowywania w temp. 2–8°C.
- 2.2 Używając 3M™ standardowego koncentratu do oznaczania białek migdała, przygotować zestaw czterech standardowych roztworów rozcieńczonych w buforze rozcieńczalnika (1X).

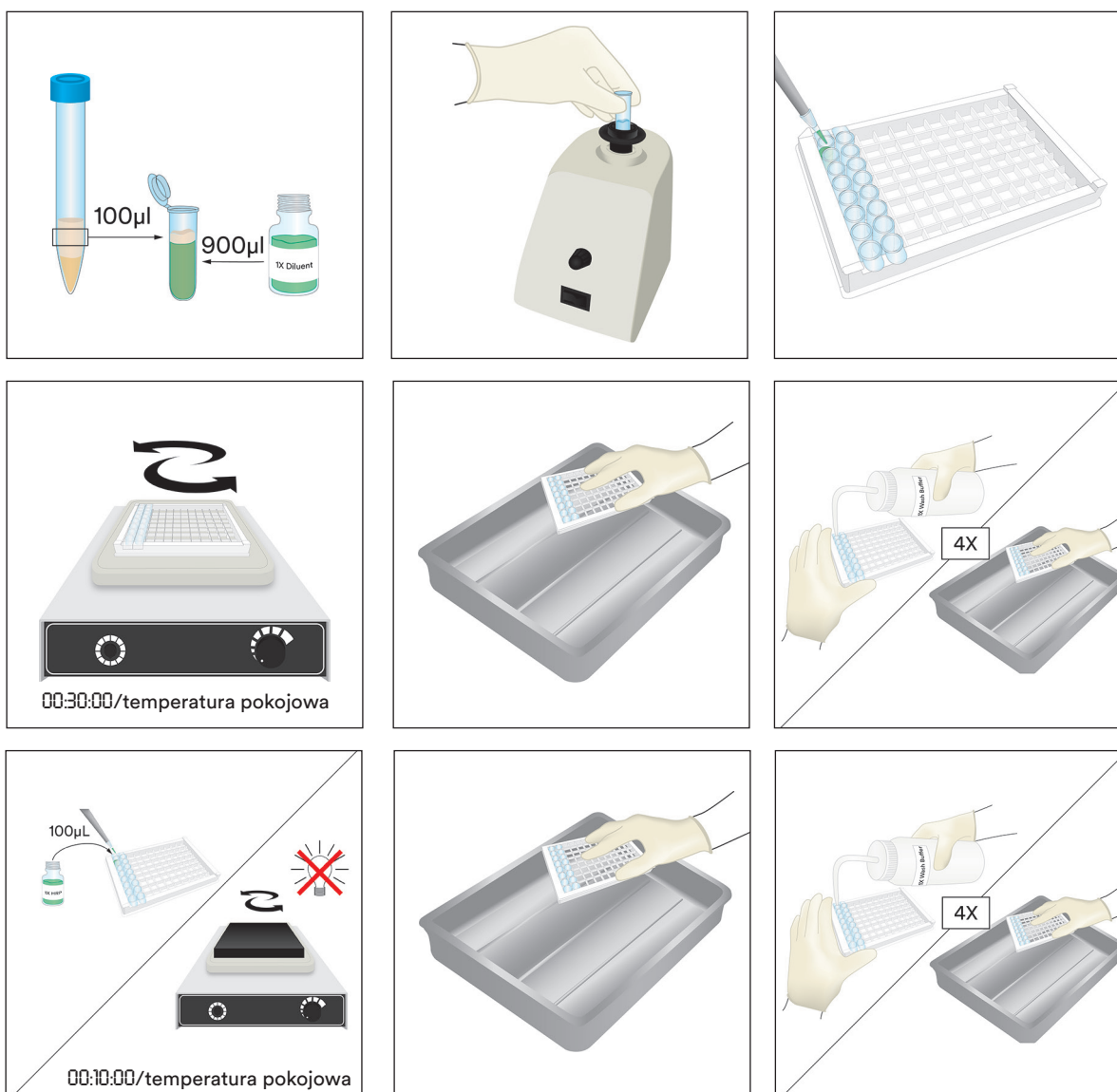
| Number standardowego roztworu | Stężenie standardowego roztworu (ng/ml) | Objętość standardowego roztworu dodana do rozcieńczalnika 1X | Objętość roztworu rozcieńczalnika 1X |
|-------------------------------|---|--|--------------------------------------|
| 4 | 270 | 10 μ l 3M standardowego koncentratu do oznaczania białek migdała | 990 μ l |
| 3 | 90 | 200 μ l standardowego roztworu numer 4 | 400 μ l |
| 2 | 30 | 200 μ l standardowego roztworu numer 3 | 400 μ l |
| 1 | 10 | 200 μ l standardowego roztworu numer 2 | 400 μ l |
| 0 | 0 | 0 | 400 μ l |

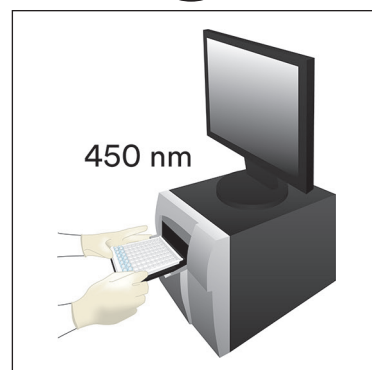
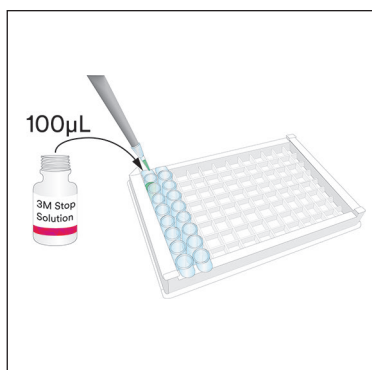
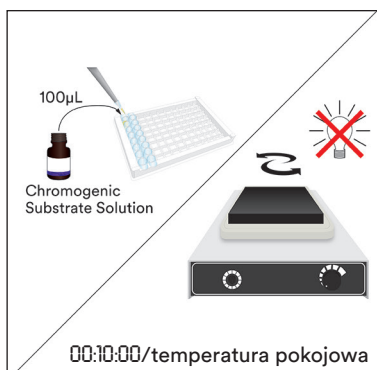
- 2.3 Odpipetować 100 μ l każdego standardowego roztworu do studzienek ELISA 3M.

- Standardowy roztwór 0 (1X bufor 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 μ l wyekstrahowanej próbki przygotowanej w kroku 1.4 do studzienki ELISA 3M.

- 2.5 Inkubować studzienki ELISA 3M w wyrzășarce orbitalnej ustawionej na 400 obr./min w temp. pokojowej (20–25°C) przez 30 ± 2 minut. Podczas tego etapu studzienki naleŹy pozostawić przykryte, aby zapobiec odparowaniu.
- 2.6 Po zakończeniu inkubacji zaaspirować zawartość studzienek ELISA 3M.
- 2.7 Całkowicie wypełnić każdą studzienkę ELISA 3M roztworem myjącym 1X i zaaspirować go. W przypadku ręcznego płukania naleŹy 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 migdałów do każdej studzienki ELISA 3M. Inkubować w wyrzășarce 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 uŹyciu roztworu myjącego (1X).
- 2.10 Odpipetować 100 µl roztworu substratu chromogenicznego (TMB) 3M do każdej studzienki ELISA 3M.
- 2.11 Inkubować w wyrzășarce 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 roztworu zatrzymującego reakcję 3M do każdej studzienki ELISA 3M 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 $200 \text{ ng/ml} \times 100 = 20\,000 \text{ ng/ml}$ (ppb), czyli 20 µg/ml (ppm).

Minimalne parametry robocze

- a. Granica detekcji (LOD) wynosi 1,9 ng/ml (ppb).

Granice detekcji określa się jako najniższe stężenie alergenu w próbce testowej, jakie można odróżnić od próbki rzeczywiście zerowej z konkretnym poziomem prawdopodobieństwa³. Określa się ją przez dodanie trzech odchyłeń roztworu standardowego do średniej wartości gęstości optycznej czterdziestu ośmiu kopii wzorca zerowego i obliczenie odpowiedniego stężenia.

- b. Granica kwantyfikacji (LOQ) wynosi 1 ppm.

Granice kwantyfikacji określa się jako najniższe stężenie alergenu w próbce testowej, jakie można wyodrębnić w granicach rozsądku z konkretnym poziomem dokładności³.

Dokładność

| | | |
|----------------------------|-------------------|------|
| Dokładność wewnątrztestowa | Średnia %CV = <10 | N=12 |
| Dokładność międzetestowa | Średnia %CV = <10 | N=12 |

Swoistość i reaktywność krzyżowa

Test ten rozpoznaje białka migdała i został przebadany przy użyciu wielu próbek pod względem reaktywności krzyżowej (Tabela 3).

Tabela 3. Reaktywność krzyżowa 3M Zestawu ELISA do wykrywania białek obecnych w migdałach.

| Próbka macierzy | % reaktywności krzyżowej |
|--------------------|--------------------------|
| Mąka migdałowa | (+) |
| Mleko migdałowe | (+) |
| BLG | <1% |
| Kazeina wołowa | <1% |
| Mleko krowie | <1% |
| Orzech brazylijski | <1% |
| Mąka gryczana | <1% |

| | |
|---------------------------------|-----|
| Orzech nerkowca | <1% |
| Seler | <1% |
| Ciecierzycza | <1% |
| Mąka kokosowa | <1% |
| Mleko kokosowe | <1% |
| Mąka kukurydziana | <1% |
| Parwalbumina ryby | <1% |
| Orzech laskowy | <1% |
| Fasola limeńska | <1% |
| Orzech makadamia | <1% |
| Nasiona gorczycy | <1% |
| Owomucyna | <1% |
| Ekstrakt grochowy | <1% |
| Mąka z orzechów arachidowych | <1% |
| Orzech pekan | <1% |
| Orzech piniowy | <1% |
| Mąka pistacjowa | <1% |
| Nasiona dyni | <1% |
| Przeźrebek | <1% |
| Nasiona sezamu | <1% |
| Krewetka | <1% |
| Mąka z sorgo | <1% |
| Mąka sojowa | <1% |
| Mleko sojowe | <1% |
| Nasiona słonecznika | <1% |
| Orzech włoski | <1% |

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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

Инструкции к препарату

ELISA набор (протеин миндаля)

Иммуноферментный анализ (ELISA) для количественной оценки протеинов миндаля.

Описание и предназначение продукта

3M™ ELISA набор (протеин миндаля) предназначен для обнаружения протеинов миндаля в финальной воде при безразборной чистке (CIP), пробах из окружающей среды, пищевых ингредиентах и пищевых продуктах, подвергшихся технологической обработке.







3M ELISA набор (протеин миндаля) используется с применением сэндвич-техники. Присутствующие в пробе протеины миндаля взаимодействуют с антителами миндаля, поглощенными поверхностью полистироловых микротитрационных ячеек. После удаления свободных протеинов путем промывания добавляются антитела миндаля, конъюгированные с пероксидазой хрена (HRP). Эти меченные ферментом антитела образуют комплексные соединения с ранее связанным протеином миндаля. 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 миндаля в исследуемой пробе. Таким образом, абсорбция при длине волны 450 нм является показателем концентрации протеина миндаля в исследуемой пробе. Количество протеина миндаля в исследуемой пробе можно экстраполировать по стандартной кривой, построенной на основании стандартных растворов известной концентрации и скорректированной в зависимости от степени разведения пробы.


3M ELISA набор (протеин миндаля) предназначен для использования в лабораторных условиях специалистами, которые прошли профессиональную подготовку по вопросам методов лабораторных исследований. Компания 3M документально не подтверждала возможность использования этого продукта в других отраслях промышленности, кроме отрасли производства продуктов питания и напитков. Например, компания 3M не подтверждала документально возможность использования этого продукта для тестирования фармацевтических, косметических, клинических или ветеринарных проб. 3M ELISA набор (протеин миндаля) не оценивался со всеми возможными пищевыми продуктами, процессами обработки продуктов и протоколами анализа.

3M ELISA набор (протеин миндаля) 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 «3M™ ELISA набор (протеин миндаля)» | 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. |

| | | | | |
|--|--|---|--|---|
| <p>ЗМ™ Конъюгат HRP для миндаля (10X)</p>  | <p>Одна ампула с 1,5 мл 10-кратного концентрата антител (10X), конъюгированных с пероксидазой хрена (HRP).</p> | <p>Чтобы сделать 1-кратный рабочий раствор, разведите в соотношении 1/10 непосредственно перед использованием.</p> | <p>2–8 °С в темноте.</p> | <p>10-кратный конъюгат устойчив до истечения срока годности набора.</p> |
| <p>ЗМ™ Стандартный концентрат протеина миндаля</p>  | <p>Одна ампула с известной концентрацией протеина миндаля.</p> | <p>Стандартную процедуру подготовки см. в разделе «Процедура ELISA».</p> | <p>2–8 °С. Не замораживайте продукт.</p> | <p>ЗМ Стандартный концентрат протеина миндаля устойчив до истечения срока годности набора.</p> |
| <p>ЗМ™ Разбавитель (5-кратный)</p>  | <p>Один флакон с 50 мл 5-кратного разбавителя.</p> | <p>Чтобы сделать 1-кратный рабочий раствор, разведите в соотношении 1/5 непосредственно перед использованием.</p> | <p>2–8 °С</p> | <p>5-кратный ЗМ буфер для разведения устойчив до истечения срока годности набора.</p> |
| <p>ЗМ™ Раствор для промывания (20-кратный)</p>  | <p>Один флакон с 50 мл 20-кратного раствора для промывания.</p> | <p>Чтобы сделать 1-кратный рабочий раствор, разведите в соотношении 1/20.</p> | <p>2–8 °С для 1-кратного рабочего раствора и 20-кратного концентрата раствора для промывания.</p> | <p>ЗМ Раствор для промывания (20-кратный) устойчив до истечения срока годности набора. 1-кратный раствор для промывания устойчив как минимум в течение одной недели после подготовки.</p> |
| <p>ЗМ™ Экстракционный буфер (4-кратный) E26</p>  | <p>Один флакон со 120 мл 4-кратного экстракционного буфера.</p> | <p>Чтобы сделать 1-кратный рабочий раствор, разведите в соотношении 1/4. Перед использованием нагрейте рабочий раствор до 50–60 °С.</p> | <p>2–8 °С для 1-кратного рабочего раствора и 4-кратного ЗМ концентрата экстракционного буфера.</p> | <p>1-кратный экстракционный буфер и ЗМ Экстракционный буфер (4-кратный) устойчивы до истечения срока годности набора.</p> |
| <p>ЗМ™ Раствор хромогенного субстрата</p>  | <p>Один флакон с 12 мл 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ).</p> | <p>Готово к использованию.</p> | <p>2–8 °С в темноте.</p> | <p>Берегите от света. ЗМ Раствор хромогенного субстрата устойчив до истечения срока годности набора.</p> |

| | | | | |
|--|---|----------------------------|--------|---|
| 3М™ Останавливающий раствор  | Один флакон с 12 мл серной кислоты в концентрации 0.3 М | Готово к использованию. | 2–8 °С | 3М Останавливающий раствор устойчив до истечения срока годности набора. |
|--|---|----------------------------|--------|---|

Материалы, не входящие 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 «3М ELISA набор (протеин миндаля)». 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 17025².
- Обязательно соблюдайте стандартные лабораторные меры обеспечения безопасности, в том числе используйте защитную одежду и средства защиты глаз при работе с реагентами.
- Избегайте контакта 3М 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 3М ELISA набор (протеин миндаля) согласно указаниям на упаковке и в инструкциях к препарату.
- Используйте 3М ELISA набор (протеин миндаля) 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 продукту.
- Компания 3М документально не подтверждала возможность использования системы «3М ELISA набор (протеин миндаля)» в других отраслях, кроме производства продуктов питания и напитков. Например, компания 3М 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 3М ELISA набор (протеин миндаля) до истечения срока действия.
- Всегда подготавливайте рабочие растворы с помощью концентрированных реагентов системы «3М ELISA набор (протеин миндаля)» при температуре 20–25°C.



- Не замораживайте 3М стандартный концентрат протеина миндаля.
- Если раствор хромогенного субстрата стал синим, не используйте его. Во избежание перекрестного загрязнения 3М раствора хромогенного субстрата соблюдайте правила «Надлежащая лабораторная практика»¹.

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 3М стандартными растворами протеина миндаля 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.3M.com/foodsafety либо у местного представителя или дистрибьютора компании 3М.

ОБЯЗАННОСТИ ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

Пользователи несут полную ответственность за ознакомление с инструкциями и информацией об использовании продукта. Для получения более подробной информации посетите наш веб-сайт по адресу www.3M.com/foodsafety либо свяжитесь с вашим местным представителем или дистрибьютором 3М.

Как и в случае с любыми методами тестирования для анализа пищевых продуктов, тестовая матрица может повлиять на результаты тестирований. 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.

Пользователь также несет ответственность за то, что выбранный им метод исследования отвечает требованиям его клиентов или поставщиков.

Результаты, полученные с помощью продукта 3М 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, 3М 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 3М не является надлежащим, компания 3М или уполномоченный этой компанией дистрибьютор обязуется по своему усмотрению заменить этот продукт или возместить стоимость покупки этого продукта. Это единственный способ разрешения спора. О возможном дефекте необходимо немедленно уведомить компанию 3М в течение шестидесяти дней с момента его обнаружения, после чего вернуть продукт в компанию 3М. Для санкционирования возврата товара позвоните в Службу поддержки клиентов (1-800-328-1671 в США) или своему официальному представителю отдела Контроля возврата компании 3М.

ОГРАНИЧЕНИЕ ОТВЕТСТВЕННОСТИ КОМПАНИИ 3М

3М НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ ЗА УЩЕРБ ИЛИ ПОВРЕЖДЕНИЯ, ЯВЛЯЮЩИЕСЯ ПРЯМЫМИ, НЕПРЯМЫМИ, УМЫШЛЕННЫМИ, СЛУЧАЙНЫМИ ИЛИ КОСВЕННЫМИ, ВКЛЮЧАЯ, ПОМИМО ПРОЧЕГО, УТРАЧЕННУЮ ПРИБЫЛЬ. Ответственность компании 3М ни при каких обстоятельствах и несмотря ни на какие требования не может превышать стоимость продукта.

Хранение и утилизация

Храните содержимое системы «3М ELISA набор (протеин миндаля)» при температуре 2–8 °C. Не замораживайте продукт. Храните разведенные рабочие растворы, как описано в таблице 1.

Не используйте компоненты системы «3М ELISA набор (протеин миндаля)» 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. 3М Экстракционный буфер

Чтобы приготовить 1-кратный экстракционный буфер, добавьте одну часть 3М 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. 3М Раствор разбавителя

Чтобы приготовить 1-кратный раствор разбавителя, добавьте одну часть 3М разбавителя (5-кратного) к четырем частям деионизированной или дистиллированной воды. Для каждой пробы всего требуется 4,5 мл 1-кратного раствора разбавителя.

с. 3М Раствор для промывания

Чтобы приготовить 1-кратный раствор для промывания, добавьте одну часть 3М раствора для промывания (20-кратного) к 19 частям деионизированной или дистиллированной воды. Для каждой ячейки 3М ELISA требуется приблизительно 2,5 мл 1-кратного раствора для промывания.

Примечание: В случае хранения при температуре 2–8 °C в 3М растворе для промывания (20-кратном) могут образовываться кристаллы. Чтобы растворить кристаллы перед подготовкой раствора для промывания (1-кратного), подогрейте 3М раствор для промывания (20-кратный) до 30–35 °C в водяной бане или инкубаторе.

д. 3М Конъюгат HRP для миндаля

Чтобы приготовить 1-кратный конъюгат HRP для миндаля, добавьте одну часть 3М конъюгата HRP для миндаля (10-кратного) и разведите в 9 частях 1-кратного раствора разбавителя. Подготовьте непосредственно перед использованием. Для каждой ячейки 3М ELISA требуется 100 мкл 1-кратного конъюгата HRP для миндаля.

Подготовка образца

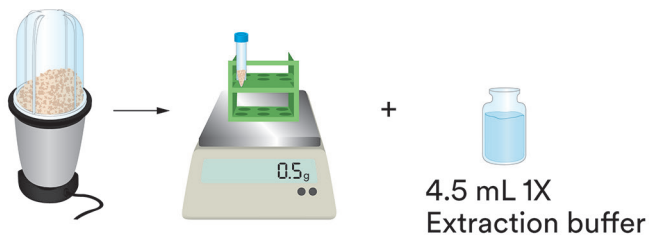
Примечание. Экстракцию всех проб следует проводить с 1-кратным экстракционным буфером, предварительно подогретым до 50–60 °C.

1.1. Подготовьте пробу для экстракции протеина в чистой либо одноразовой пробирке, как описано в таблице 2.

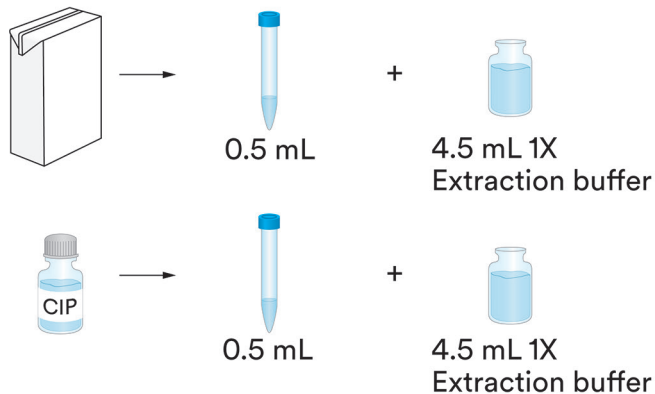
Таблица 2. Подготовка образца

| 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 |

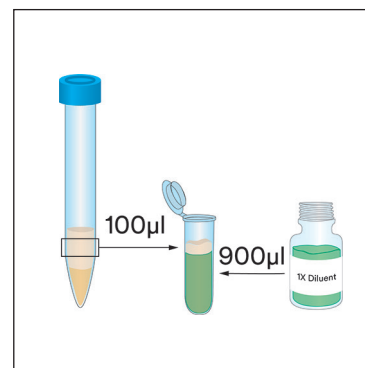
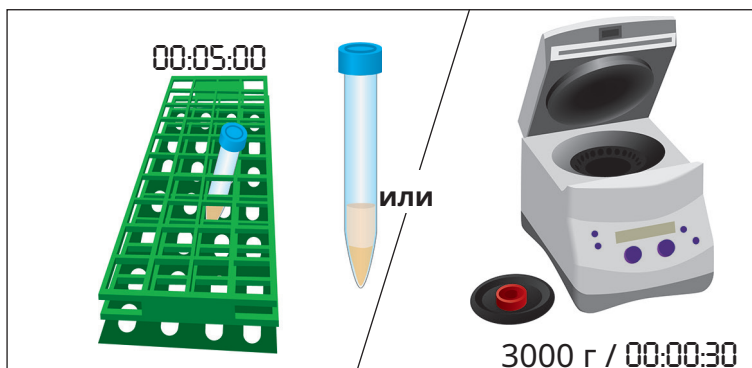
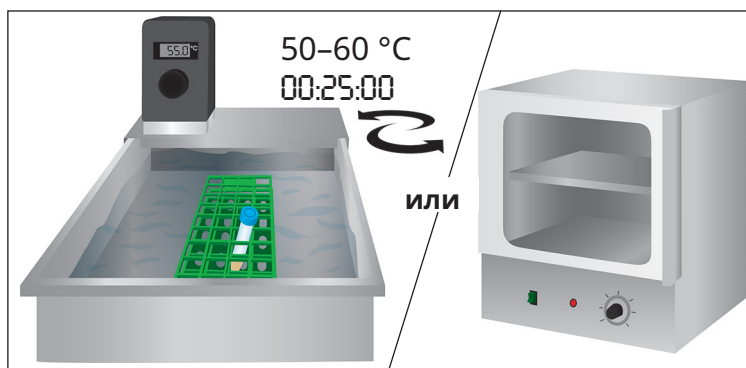
Твердые пищевые продукты



Жидкие пищевые продукты



- 1.2. Инкубируйте разведенные пробы в водяной бане-шейкере или в шейкере-инкубаторе при температуре $50-60^{\circ}\text{C}$ в течение 25 ± 1 мин. Также можно оставить пробы в водяной бане или инкубаторе при температуре $50-60^{\circ}\text{C}$ 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 буфера для разведения (1-кратного). Хорошо перемешайте путем взбалтывания или встряхивания (это соответствует степени разведения исходной пробы 1/100).



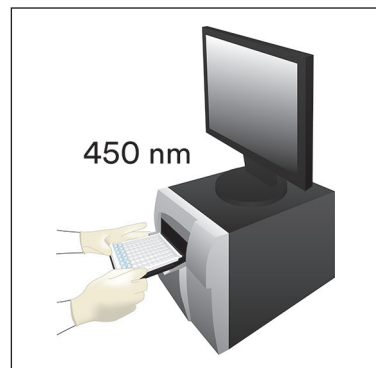
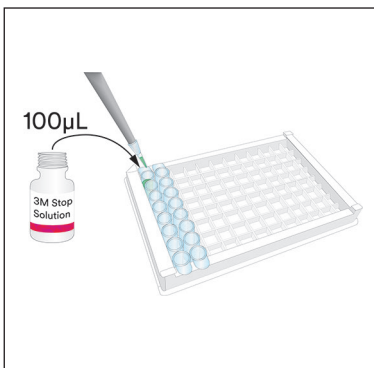
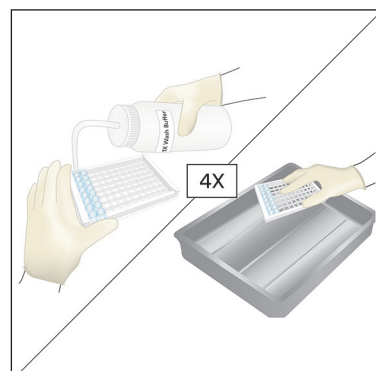
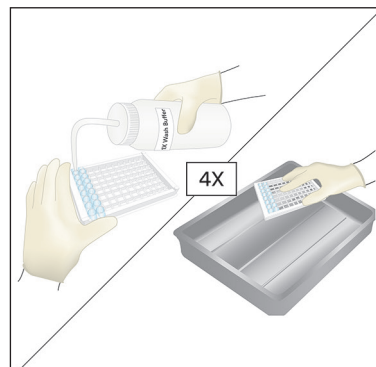
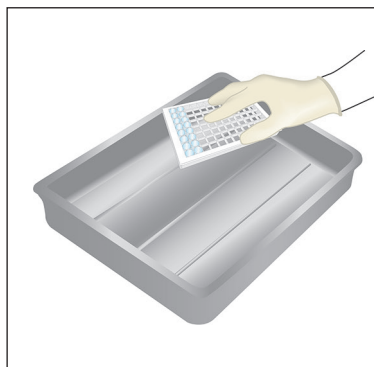
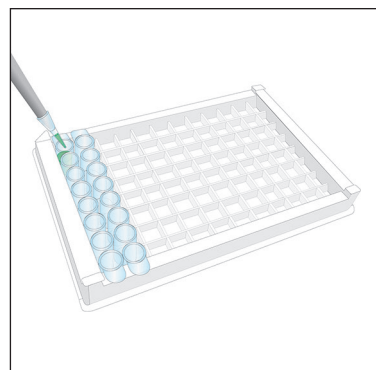
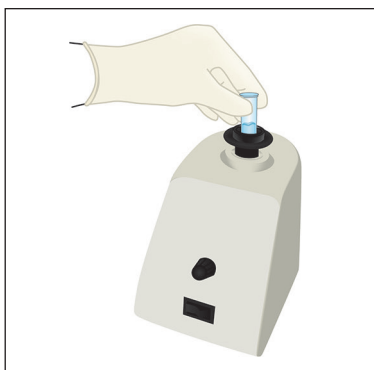
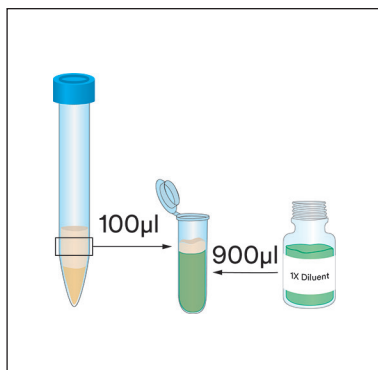


Процедура ELISA

- 2.1 Извлеките по одной ячейке 3М ELISA для каждой пробы и (или) стандартного раствора и поместите их в держатель для ячеек. Верните неиспользованные ячейки 3М ELISA в фольгированный пакет, обратно герметизируйте и поместите обратно на хранение при температуре 2–8 °С.
- 2.2 С помощью 3М™ стандартного концентрата протеина миндаля подготовьте набор из четырех стандартных растворов, разбавленных в буфере для разведения (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 3М стандартного концентрата протеина миндаля | 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 3М ELISA.
- Стандартный раствор 0 (1-кратный буфер для разведения)
 - 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 3М ELISA.
- 2.5 Инкубируйте ячейки 3М ELISA в орбитальном шейкере со скоростью 400 об/мин при комнатной температуре (20–25 °С) в течение 30 ± 2 мин. Во избежание испарения на этом этапе ячейки должны оставаться закрытыми и в ровном положении.
- 2.6 После инкубации удалите содержимое ячеек 3М ELISA с помощью аспиратора.
- 2.7 Полностью заполните каждую ячейку 3М 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 миндаля в каждую ячейку 3М ELISA. Инкубируйте на орбитальном шейкере со скоростью 400 об/мин при комнатной температуре в течение 10 ± 2 мин. На этом этапе планшет должен оставаться закрытым, 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 3М раствора хромогенного субстрата (ТМБ) в каждую ячейку 3М 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 закрытым, в темноте и в ровном положении.
- 2.12 После инкубации добавьте по 100 мкл 3М останавливающего раствора в каждую ячейку 3М ELISA и определите абсорбцию (при длине волны 450 нм) в течение 30 минут.



Анализ результатов

- 3,1 Вычитите 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 $200 \text{ нг/мл} \times 100 = 20\,000 \text{ нг/мл (ppb)}$, что равно 20 мкг/мл (ppm).

Минимальные рабочие характеристики

- а. Предел обнаружения (LOD) составляет 1,9 нг/мл (ppb).

Пределом обнаружения считается низшая концентрация аллергена в исследуемой пробе, которую можно отличить от истинной холостой пробы с указанным уровнем вероятности³. 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 точности³.

Точность

| | | |
|-------------------------------------|-------------------|--------|
| Точность в пределах одного анализа | Средн. %CV = < 10 | N = 12 |
| Точность в пределах разных анализов | Средн. %CV = < 10 | N = 12 |

Специфичность и перекрестная реактивность

Этот анализ используется для обнаружения протеина миндаля и был испытан на перекрестную реактивность с различными пробами (таблица 3).

Таблица 3. Перекрестная реактивность системы «3М ELISA набор (протеин миндаля)».

| Проба наполнителя | % перекрестной реактивности |
|--------------------------|-----------------------------|
| Миндальная мука | (+) |
| Миндальное молоко | (+) |
| Бета-лактоглобулин (BLG) | < 1 % |
| Коровий казеин | < 1 % |
| Коровье молоко | < 1 % |
| Бразильский орех | < 1 % |
| Гречневая мука | < 1 % |
| Кешью | < 1 % |
| Сельдерей | < 1 % |
| Нут | < 1 % |
| Кокосовая мука | < 1 % |
| Кокосовое молоко | < 1 % |
| Кукурузная мука | < 1 % |
| Рыбный парвальбумин | < 1 % |
| Фундук | < 1 % |
| Фасоль лимская | < 1 % |

| | |
|--------------------|-------|
| Орех макадамии | < 1 % |
| Семена горчицы | < 1 % |
| Овомукоид | < 1 % |
| Гороховый экстракт | < 1 % |
| Арахисовая мука | < 1 % |
| Пекан | < 1 % |
| Кедровый орех | < 1 % |
| Фисташковая мука | < 1 % |
| Семя тыквы | < 1 % |
| Морской гребешок | < 1 % |
| Кунжутное семя | < 1 % |
| Креветки | < 1 % |
| Сорговая мука | < 1 % |
| Соевая мука | < 1 % |
| Соевое молоко | < 1 % |
| Семя подсолнечника | < 1 % |
| Грецкий орех | < 1 % |

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 М. Процедуры подтверждения методов количественного анализа пищевых аллергенов ELISA: общие правила и рекомендуемые методики. *J. AOAC Int.* 93, 442–450.

Пояснение символов

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

Badem Proteini ELISA Kiti

Badem proteinlerinin nicel analizi için Enzime Bağlı İmmunosorbent Test (ELISA).

Ürün Tanımı ve Kullanım Amacı





3M™ Badem Proteini ELISA Kiti, yerinde temizleme (CIP) son durulama suyu, çevresel svab örnekleri, gıda bileşenleri ve işlenmiş gıda ürünlerinde badem proteinlerinin algılanması için geliştirilmiştir.

3M Badem Proteini ELISA Kitinde sandviç ELISA kullanılır. Örnekte bulunan badem proteinleri, polistiren mikrotitre yuvalarının yüzeyine tutunan badem karşıtı antikora reaksiyona girer. Bağırsız proteinler yıkanarak giderildikten sonra yabancurpu peroksidaz (HRP) ile bağılı badem karşıtı antikolar ilave edilir. Bu enzimle işaretlenmiş antikolar, önceden bağılı olan badem proteiniyle bileşikler oluşturur. İkinci yıkama adımının ardından, kromojenik bir substrat olan 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin (TMB) ilave edilerek immunoabsorbente bağılı enzim tespit edilir. Bu enzim reaksiyonundan ortaya çıkan renk, test edilen örnekteki badem proteininin yoğunluğuna doğrudan bağılı olarak değiştiğinden, 450 nm'deki emilim, test örneğindeki badem proteini yoğunluğunun ölçümü için kullanılır. Test örneğinde mevcut badem proteininin miktarı, bilinen yoğunluk standartlarından hareketle standart eğriden tahmin edilebilir ve örneğin seyreltilmesi göz önünde bulundurularak değerlendirilebilir.





3M Badem Proteini ELISA Kiti laboratuvar teknikleri konusunda eğitim almış uzmanlar tarafından bir laboratuvar ortamında kullanıma yöneliktir. 3M, bu ürünü yiyecek veya içecek endüstrileri dışında kullanım için tescil ettirmemiştir. Örneğin 3M bu ürünü farmasötik ürünler, kozmetik malzemeler, klinik veya veterinerlik amaçlı örneklerin testlerinde kullanım için tescil ettirmemiştir. 3M Badem Proteini ELISA Kiti, tüm potansiyel gıda ürünleri, gıda işlemleri ve test protokolleriyle değerlendirilmemiştir.

3M Badem 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 |
|---|--|--|---|---|
| 3M™ Badem 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. |
| 3M™ Badem HRP Konjugatı (10X)  | 1,5 mL 10X Yabancurpu Peroksidazla (HRP) Bağılı 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. |
| 3M™ Badem Proteini Standart Konsantresi  | Bilinen yoğunlukta badem proteini içeren bir adet şişe. | Standart hazırlama için ELISA Prosedürü Bölümünü inceleyin. | 2-8°C. Dondurmayın. | 3M Badem Proteini Standart konsantresi, kitin son kullanım tarihine kadar stabildir. |
| 3M™ 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 3M Seyreltici Tamponu, kit üzerindeki son kullanım tarihine kadar stabildir. |



| | | | | |
|--|--|---|--|---|
| 3M™ 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 3M Yıkama Çözeltisi, kit üzerindeki son kullanım tarihine kadar stabildir. 1X Yıkama Çözeltisi, hazırlandıktan sonra en az bir hafta stabildir. |
| 3M™ 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 3M Özütleme Tamponu konsantresi için 2-8°C. | 1X Özütleme Tamponu ve 4X 3M Özütleme Tamponu, kitin son kullanım tarihine kadar stabildir. |
| 3M™ Kromojenik Substrat Çözeltisi  | 12 mL 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin (TMB) içeren bir adet şişe. | Kullanıma hazır. | Karanlıkta 2-8°C. | Işıktan koruyun. 3M Kromojenik Substrat Çözeltisi, kit üzerindeki son kullanım tarihine kadar stabildir. |
| 3M™ Stop Çözeltisi  | 12 mL 0,3 M sülfürik asit içeren bir adet şişe. | Kullanıma hazır. | 2-8°C | 3M 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, 3M Badem 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' veya ISO 17025² konusunda personeline eğitim vermesi gerekir.
- Reaktiflerle çalışırken, uygun koruyucu kıyafet ve gözlük kullanımı dahil olmak üzere daima standart laboratuvar güvenlik uygulamalarını izleyin.
- 3M 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:

- 3M Badem Proteini ELISA Kitini ambalaj üzerinde ve ürün talimatlarında belirtildiği şekilde saklayın.
- 3M Badem 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.
- 3M, 3M Badem Proteini ELISA Kitini yiyecek veya içecek endüstrileri dışında kullanım için belgelememiştir. Örneğin 3M bu ürünü farmasötik ürünler, kozmetik malzemeler, klinik veya veterinerlik amaçlı örneklerin testlerinde kullanım için tescil ettirmemiştir.

Kontamine ürünün açığa çıkmasına yol açan hatalı sonuçlar ile ilişkili riskleri azaltmak için:

- 3M Badem Proteini ELISA Kitini mutlaka son kullanım tarihinden önce kullanın.
- 3M Badem Proteini ELISA Kitiyle konsantre reaktiflerini kullanarak çalışma çözeltilerini her zaman 20-25°C sıcaklıklarda hazırlayın.
- 3M Badem Proteini Standart Konsantresini dondurmayın.
- Rengi maviye dönmüş Kromojenik Substrat Çözeltilisini kullanmayın. 3M Kromojenik Substrat Çözeltilisinin çapraz kontaminasyonundan kaçınmak için İyi Laboratuvar Uygulamalarına¹ uyun.

BİLDİRİM**Hatalı sonuçlara ilişkin riskleri azaltmak için:**

- Özütleme sonrasında örneklerin stabilitesi değerlendirilmemiştir. ELISA prosedürü, örnek özütlendikten hemen sonra yapılmalıdır.
- Örneklerin çapraz kontaminasyonunu önlemek için 3M Badem Proteini Standartlarını İyi Laboratuvar Uygulamalarına¹ uygun olarak uygulayın.

Detaylı bilgi için Güvenlik Veri Formuna başvurun.

Ürün performansı ile ilgili dokümantasyon için www.3M.com/foodsafety adresindeki web sitemizi ziyaret edin veya yerel 3M temsilciniz ya da dağıtıcınızla iletişim kurun.

Kullanıcının Sorumluluğu

Kullanıcılar ürün yönergeleri ve bilgileri hakkında bilgi edinmekle yükümlüdür. Daha fazla bilgi için

www.3M.com/foodsafety adresini ziyaret ediniz ya da yerel 3M temsilcinizle veya dağıtıcınızla iletişim kurunuz.

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.

Kullanıcı, belirlediği ölçütleri karşılayacak sayıda yeterli sayıda numuneyi değerlendirecek test yöntemini veya ürünü seçmekten kendisi sorumludur.

Tüm test metodlarının ve sonuçlarının müşterilerin ve tedarikçilerin gereksinimlerini karşılamasını sağlamak yine kullanıcının sorumluluğundadır.

Tüm test yöntemlerinde olduğu gibi, herhangi bir 3M Gıda Güvenliği ürününün kullanılmasıyla elde edilen sonuçlar test edilen matrislerin veya süreçlerin kalitesi konusunda bir garanti oluşturmaz.

Garantilerin Sınırlandırılması / Sınırlı Çözüm

3M, HER BİR ÜRÜN AMBALAJININ ÜZERİNDEKİ SINIRLI GARANTİ KISMINDA AÇIKÇA BELİRTİLENLER HARİCİNDE, PAZARLANABİLİRLİK VEYA BELİRLİ BİR KULLANIMA UYGUNLUK GARANTİLERİ DAHİL ANCAK BUNLARLA SINIRLI OLMAMAK ÜZERE HİÇBİR AÇIK VEYA ZİMNİ GARANTİYİ KABUL ETMEMEKTEDİR. Herhangi bir 3M Gıda Güvenlik Ürünü'nün kusurlu olması durumunda, 3M veya yetkili dağıtıcısı, tercihi göre ürünü değiştirecek veya ürün satış tutarını iade edecektir. Tarafınıza münhasır çözümler bunlardır. Üründe mevcut olduğundan kuşku duyulan herhangi bir kusurun fark edilmesinden sonraki altmış gün içinde durumu 3M'e bildiriniz veya ürünü 3M'e iade ediniz. Mal İade İzni almak için lütfen Müşteri Hizmetleri'ni (A.B.D.'de 1-800-328-1671) veya yerel resmi 3M Gıda Güvenliği temsilcinizi arayın.

3M Sınırlı Sorumluluğu

3M 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 3M'in herhangi bir hukuk kuramı altındaki sorumluluğu, kusurlu olduğu iddia edilen ürünün satış fiyatını aşamaz.

Saklama ve İmha

3M Badem Proteini ELISA Kitinin içindekileri 2-8°C sıcaklıkta saklayın. Dondurmayın. Seyreltilmiş çalışma çözeltilerini Tablo 1'de açıklandığı biçimde saklayın.

3M Badem 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. 3M Özütleme Tamponu

1X Özütleme Tamponu hazırlamak için 3M 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. 3M Seyreltici Çözelti

1X Seyreltici çözeltiyi hazırlamak için bir birim 3M Seyrelticiyi (5X) dört birim deiyonize veya damıtılmış suya ilave edin. Her örnek, toplam 4,5 mL 1X Seyreltici çözelti içerir.

c. 3M Yıkama Çözeltisi

1X Yıkama Çözeltisi hazırlamak için bir birim 3M Yıkama Çözeltisini (20X) 19 birim deiyonize veya damıtılmış suya ilave edin. Her bir 3M ELISA Yuvası için yaklaşık 2,5 mL 1X Yıkama Çözeltisi gerekir.

Not: 2-8°C sıcaklıkta saklandığında, 3M Yıkama Çözeltisinde (20X) kristaller oluşabilir. Kristalleri çözmek için Yıkama Çözeltisini (1X) hazırlamadan önce 3M Yıkama Çözeltisini (20X) yıkama banyosu veya inkübatörde 30-35°C sıcaklığa ısıtın.

d. 3M Badem HRP Konjugatı

1X Badem HRP Konjugatı hazırlamak için bir birim 3M Badem HRP Konjugatı (10X) ilave edin ve 9 birim 1X Seyreltici çözelti içinde seyreltin. Kullanımdan hemen önce hazırlayın. Her bir 3M ELISA Yuvası için 100 µL 1X Badem HRP Konjugatı gerekir.

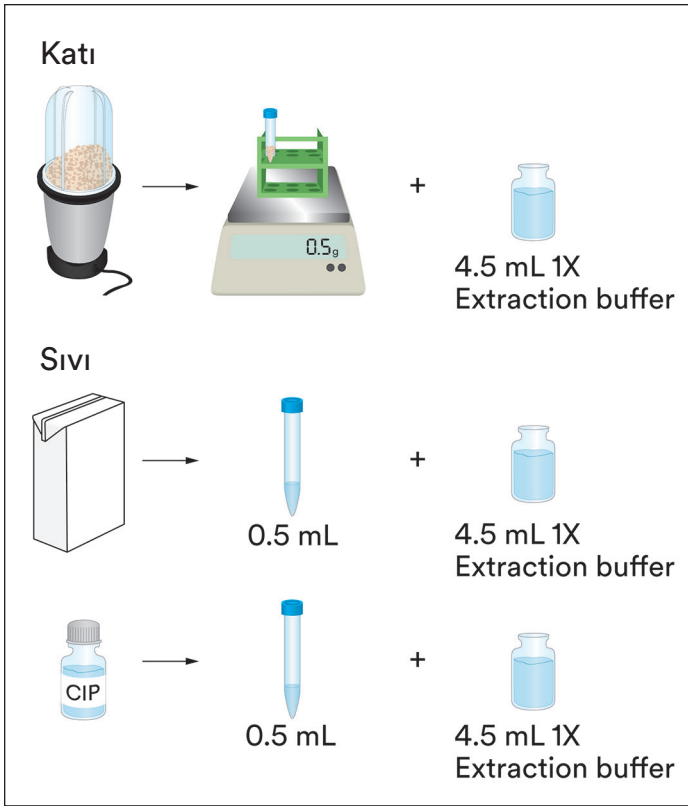
Örnek Hazırlama

Not: Tüm örnekler, 50-60°C sıcaklığa önceden ısıtılarak 1X Özütleme Tamponuyla özütlenmelidir.

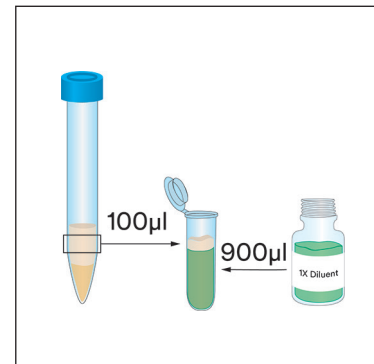
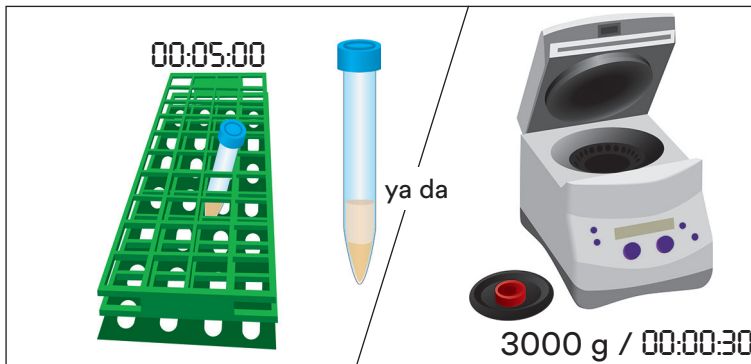
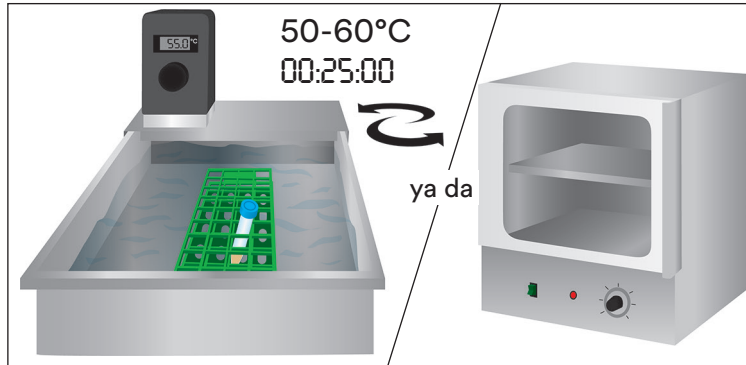
1.1 Tablo 2'de açıklandığı gibi temiz bir test tüpü veya tek kullanımlık bir tüpte protein özütleme için örnek hazırlayın.

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 $50-60^\circ$ sıcaklıkta inkübe edin. Diğer bir seçenek, örnekleri su banyosu veya inkübatörde $50-60^\circ\text{C}$ '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 ($3000 \times g$) devirde santrifüjleyin veya test tüpü rafında 5 dakika boyunca çökmeye bırakın.
- 1.4 Ara (sulu) katmandan $100 \mu\text{L}$ alın ve $900 \mu\text{L}$ Seyreltici Tamponuna (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 3M ELISA Yuvasını çıkarın ve yuvaları yuva tutucuya yerleştirin. Kullanılmamış 3M ELISA Yuvalarını tekrar folyo poşete yerleştirin, yeniden mühürleyin ve tekrar 2-8°C sıcaklıkta saklayın.
- 2.2 3M™ Badem Proteini Standart Konsantresini Kullanarak Seyreltici Tamponunda seyreltilmiş dört standart hazırlayın (1X).

| Standart Numarası | Standart Konsantrasyonu (ng/mL) | 1X Seyrelticiye ilave edilmiş standart hacmi | 1X Seyreltici çözelti hacmi |
|-------------------|---------------------------------|--|-----------------------------|
| 4 | 270 | 10 µL 3M Badem 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 3M ELISA Yuvalarına aktarın.

- Standart 0 (1X Seyreltici Tamponu)
- 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 3M ELISA Yuvasına aktarın.

- 2.5 3M 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, 3M ELISA Yuvalarının içeriğini çekin.

- 2.7 Her bir 3M 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.

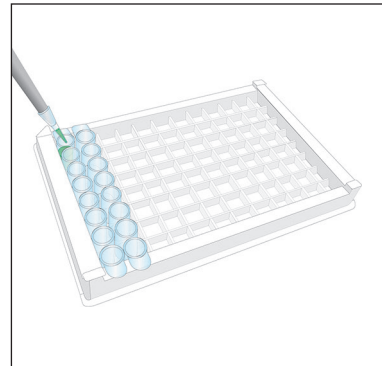
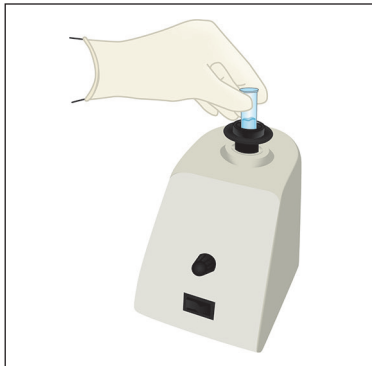
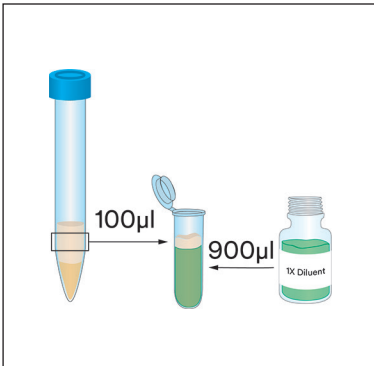
- 2.8 Her bir 3M ELISA Yuvasına pipetle 100 µL 1X Badem HRP Konjugatı boşaltın. 400 rpm devire ayarlanmış yörüngeli çalkalayıcıda ortam sıcaklığında 10 ± 2 dakika inkübe edin. Bu adımda plakayı karanlık ve düz tutun.

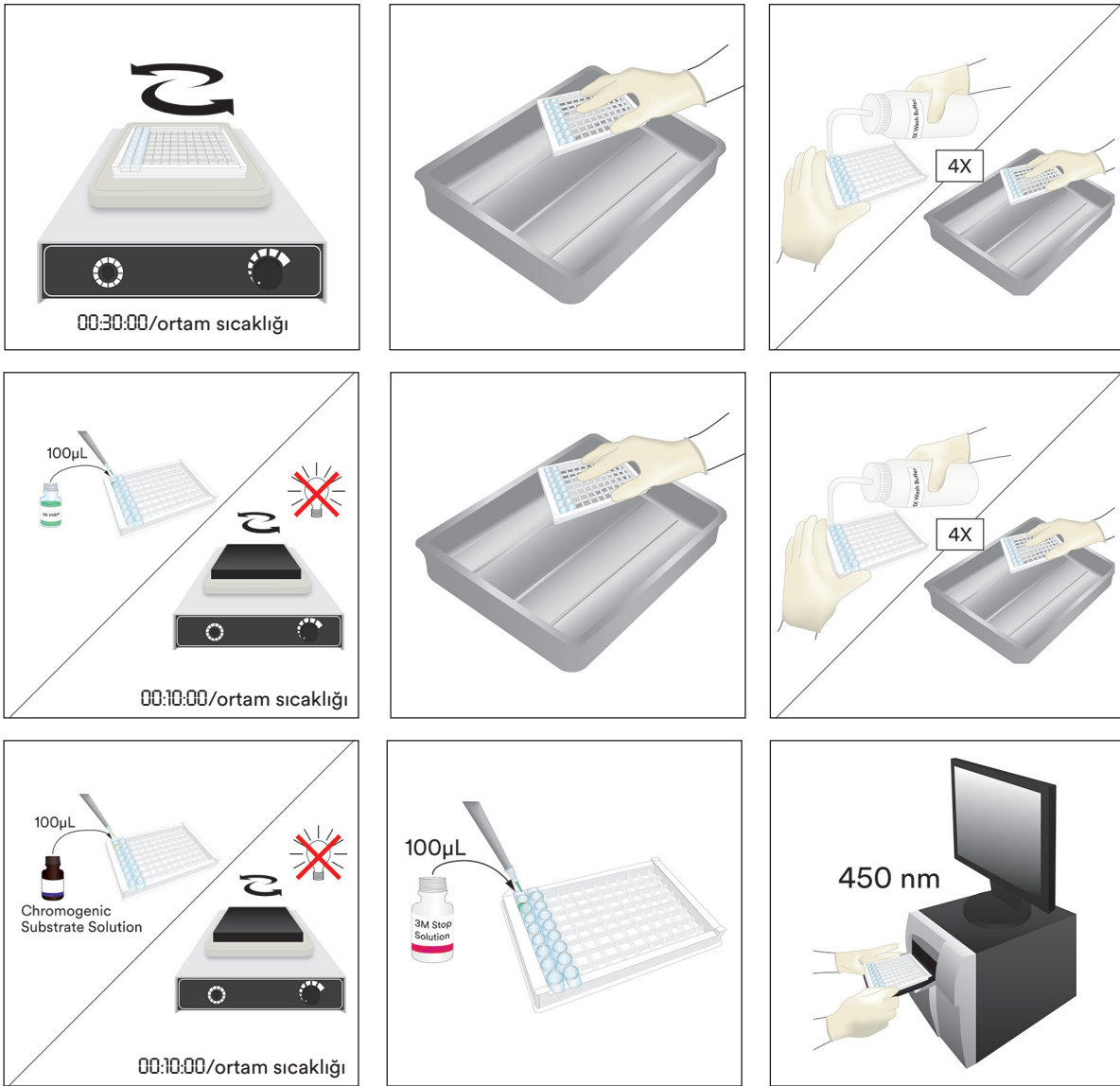
- 2.9 Yıkama Çözeltisiyle (1X) toplam dört yıkamayı tamamlamak için 2.6 ve 2.7 adımlarını tekrarlayın.

- 2.10 100 µL 3M Kromojenik Substrat Çözeltisini (TMB) 3M 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, 3M ELISA Yuvalarının her birine 100 µL 3M 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 parametrelili 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 $200 \text{ ng/mL} \times 100 = 20.000 \text{ ng/mL (ppb)}$, yani $20 \mu\text{g/mL (ppm)}$ olacaktır.

Minimum Performans Özellikleri

- a. Algılama Limiti (LOD) 1,9 ng/mL'dir (ppb)

Algılama limiti, belirtilen olasılık seviyesinde gerçek boş örnekten ayırt edilebilen test örneğinde alerjenin en düşük konsantrasyonu olarak tanımlanır³. 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 tanımlanır³.

**Hassaslık**

| | | |
|--------------------------|--------------------|------|
| Deney İçi Hassaslık | Ortalama %CV = <10 | N=12 |
| Deneyler Arası Hassaslık | Ortalama %CV = <10 | N=12 |

Özgüllük ve Çapraz Reaksiyon

Bu deney, badem proteinini tespit eder ve çeşitli örneklerle çapraz reaksiyon yönünden test edilmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. 3M Badem Proteinini ELISA Kitinin Çapraz Reaksiyonları.

| Matris örneği | Çapraz Reaksiyon % |
|-----------------------|--------------------|
| Badem Unu | (+) |
| Badem Sütü | (+) |
| BLG | <%1 |
| Sığır Kazeini | <%1 |
| Sığır Sütü | <%1 |
| Brezilya Cevizi | <%1 |
| Karabuğday unu | <%1 |
| Kaju | <%1 |
| Kereviz | <%1 |
| Nohut | <%1 |
| Hindistan cevizi unu | <%1 |
| Hindistan Cevizi Sütü | <%1 |
| Mısır unu | <%1 |
| Balık Parvalbumini | <%1 |
| Fındık | <%1 |
| Lima Fasulyesi | <%1 |
| Makademya Fındığı | <%1 |
| Hardal Tohumu | <%1 |
| Ovomukoid | <%1 |
| Bezelye Özü | <%1 |
| Fıstık Unu | <%1 |
| Pıkan Cevizi | <%1 |
| Çam Fıstığı | <%1 |
| Antep fıstığı unu | <%1 |
| Kabak Çekirdeği | <%1 |
| Deniz tarağı | <%1 |
| Susam Çekirdeği | <%1 |
| Karides | <%1 |
| Sorgum unu | <%1 |
| Soya unu | <%1 |
| Soya Sütü | <%1 |
| Ayçekirdeği | <%1 |
| Ceviz | <%1 |

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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

アーモンドプロテインELISAキット

アーモンドプロテイン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






3M™ アーモンドプロテイン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アーモンドタンパク質の検出用キットです。

3M アーモンドプロテインELISAキットはサンドイッチELISAを利用しています。検体中に存在するアーモンドタンパク質は、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アーモンド抗体と反応します。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) と結合した抗アーモンド抗体を添加します。これらの酵素標識抗体は、以前に結合したアーモンド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、検査した検体中のアーモンド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、検体中のアーモンドタンパク質の濃度を測る指標となります。検体中のアーモンドタンパク質量は、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。




3M アーモンドプロテイン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。3M 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、3M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について検証しておりません。3M アーモンドプロテイン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。

3M アーモンドプロテイン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 |
|--|--|---|---------------------------------------|--|
| 3M™ アーモンドプロテイン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℃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℃で保管してください。 |
| 3M™ アーモンド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℃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。 |
| 3M™ アーモンドプロテイン標準濃縮液  | 既知濃度のアーモンド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℃。冷凍しないでください。 | 3M アーモンド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。 |
| 3M™ 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℃ | 5倍の3M 希釈緩衝液は、キットの使用期限まで安定性を維持します。 |
| 3M™ 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℃で保管してください。 | 20倍の3M 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。 |



| | | | | |
|--|---|---|---|--|
| 3M™ 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℃に加熱してください。 | 1倍希釈標準溶液と4倍の3M 抽出緩衝液のいずれも2～8℃で保管してください。 | 1倍抽出緩衝液と4倍の3M 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。 |
| 3M™ 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℃で保管してください。 | 直射日光を避けてください。3M 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。 |
| 3M™ 反応停止液  | 12 mL入りボトル1本 0.3M硫酸。 | 調整済みです。 | 2～8℃ | 3M 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 μ L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
- 攪拌機
- 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

3M アーモンドプロテイン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。

△ **注意：** 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：GLP¹またはISO 17025²)。
- 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。
- 3M 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軽減するために：

- 3M アーモンドプロテインELISAキットは、外装表示および製品情報に記載のとおり保管してください。
- 3M アーモンドプロテイン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検査を行ってください。
- 3Mは、食品または飲料以外の産業における3M アーモンドプロテイン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、3M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：

- 3M アーモンドプロテイン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、3M アーモンドプロテインELISAキットを、必ず20～25℃で使用してください。
- 3M アーモンド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。3M 発色基質溶液の交差汚染を回避するため、GLP¹に従ってください。



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、3M アーモンドプロテイン標準濃縮液はGLP¹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.3M.com/foodsafety) をご覧いただくか、3M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.3M.com/foodsafety をご覧いただくか、お近くの3M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、3M食品衛生管理製品を使用して得られた結果により、検査で使用了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。

保証の限定／限定救済策

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、3M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。3M食品衛生部門の製品に欠陥があった場合、3M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。製品の欠陥が疑われる場合は、判明した時点から60日以内にすみやかに3Mに通知し、製品を3Mに返送する必要があります。返品可否についてはカスタマーサービスにお電話にてご連絡いただくか、お近くの3M食品衛生部門までお問い合わせください。

3Mの保証責任範囲

3M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、3M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

3M アーモンドプロテインELISAキットの内容物はすべて、2～8℃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。

3M アーモンドプロテイン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、すべての培地を周囲温度 (20～25°) 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. 3M 抽出緩衝液

1倍抽出緩衝液を調製するには、3M 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℃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. 3M 希釈溶液

1倍希釈溶液を調製するには、3M 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. 3M 洗浄液

1倍洗浄液を調製するには、3M 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3M ELISAウェルにつき、1倍洗浄液約2.5 mLが必要です。

注: 3M 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、3M 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. 3M アーモンドHRPコンジュゲート

1倍アーモンドHRPコンジュゲートを調製するには、3M アーモンド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3M ELISAウェルにつき、1倍アーモンドHRPコンジュゲート100 μ Lが必要です。

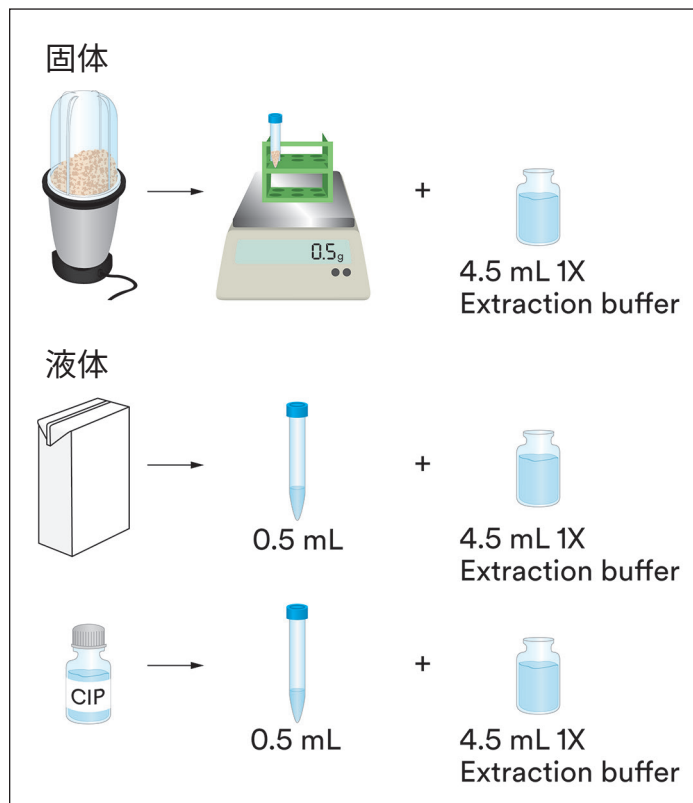
検体の準備

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

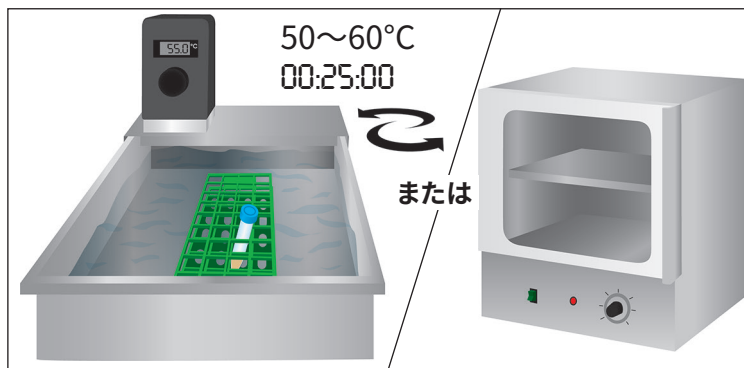
| 検体マトリックス | 検体量 | 希釈液 (1/10) |
|------------------|-------------------|---|
| 固形食品 | 0.5 \pm 0.02 g | あらかじめ加温した1倍抽出緩衝液4.5 \pm 0.09 mLを添加します |
| 液体食品 | 0.5 \pm 0.01 mL | あらかじめ加温した1倍抽出緩衝液4.5 \pm 0.09 mLを添加します |
| 定置洗浄 (CIP) 最終洗浄水 | 0.5 \pm 0.01 mL | あらかじめ加温した1倍抽出緩衝液4.5 \pm 0.09 mLを添加します |



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 \pm 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 μ Lを採取し、希釈緩衝液 (1倍) 900 μ Lに添加します。攪拌機にかけるか、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3M 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3M ELISAウェルをホイルパウチに戻し、再度密封して2～8℃の保管庫に戻します。

2.2 3M™ アーモンドプロテイン標準濃縮液を使用して、希釈緩衝液 (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 | 3M アーモンド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3M 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3M ELISAウェルに滴下します。

2.5 3M 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℃) 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、3M ELISAウェルの内容物を吸引します。

2.7 各3M 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。

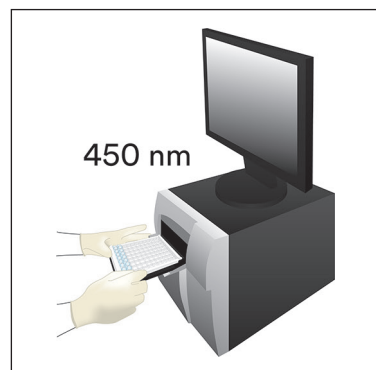
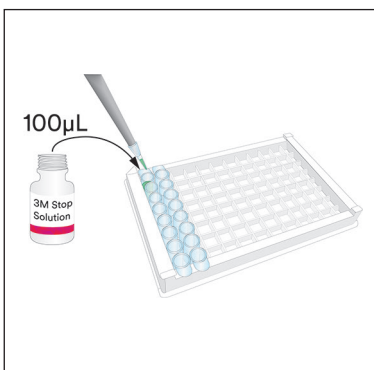
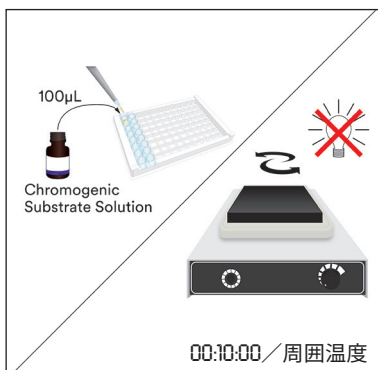
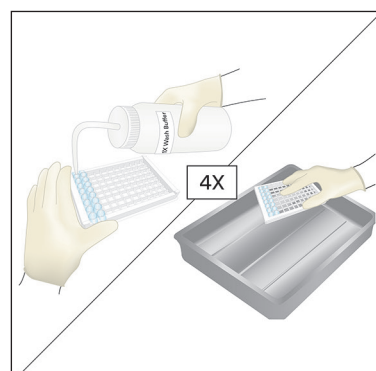
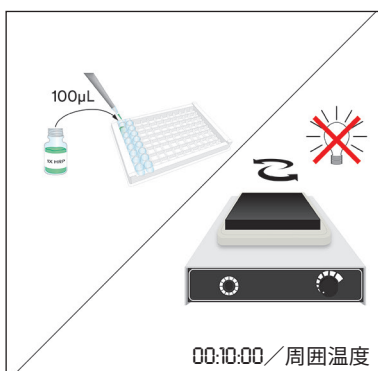
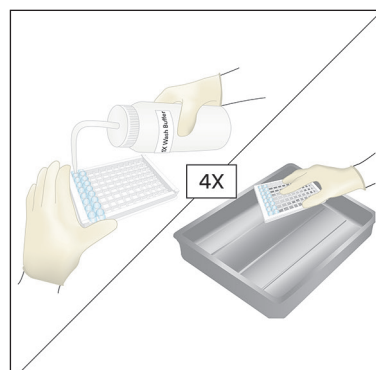
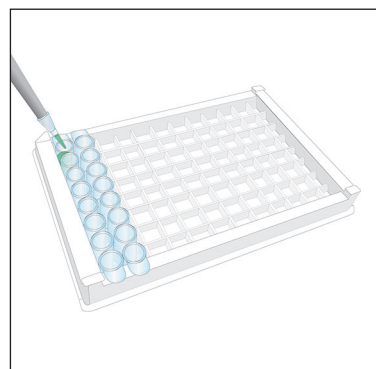
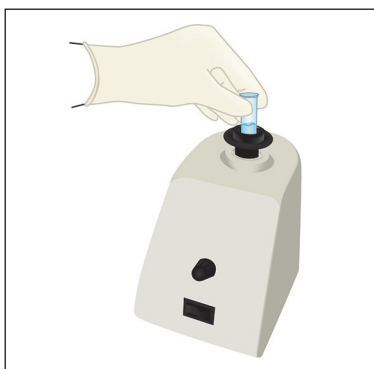
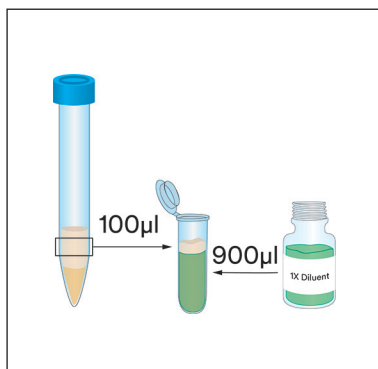
2.8 1倍アーモンドHRPコンジュゲート100 µLをピペットで各3M ELISAウェルに滴下します。400 rpmに設定したオービタルシェーカーで、ウェルを周囲温度で10±2分間培養します。このステップ中はプレートにカバーをかけ、暗所で水平に保ちます。

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 3M 発色基質溶液(TMB) 100 μ Lをピペットで各3M 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3M ELISAウェルに3M 反応停止溶液100 μ L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求めます。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. 検出限界 (LOD) は1.9 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 |

特異性および交差反応性

このアッセイはアーモンドタンパク質を認識し、交差反応性については各種検体に対し試験が行われました(表3)。

表3. 3M アーモンドプロテインELISAキットの交差反応性。

| 食材検体 | 交差反応性 (%) |
|-----------|-----------|
| アーモンド粉 | (+) |
| アーモンドミルク | (+) |
| BLG | <1% |
| 乳カゼイン | <1% |
| 牛乳 | <1% |
| ブラジルナッツ | <1% |
| そば粉 | <1% |
| カシューナッツ | <1% |
| セロリ | <1% |
| ヒヨコ豆 | <1% |
| ココナッツ粉 | <1% |
| ココナッツミルク | <1% |
| コーンフラワー | <1% |
| 魚パルブアルブミン | <1% |
| ヘーゼルナッツ | <1% |
| ライマメ | <1% |
| マカダミアナッツ | <1% |
| マスタードシード | <1% |
| オボムコイド | <1% |
| エンドウ豆抽出物 | <1% |
| ピーナッツ粉 | <1% |
| ピーカンナッツ | <1% |

| | |
|--------|-----|
| 松の実 | <1% |
| ピスタチオ粉 | <1% |
| カボチャ種子 | <1% |
| ホタテ貝 | <1% |
| ゴマ種子 | <1% |
| エビ | <1% |
| モロコシ粉 | <1% |
| 大豆粉 | <1% |
| 豆乳 | <1% |
| ヒマワリ種子 | <1% |
| くるみ | <1% |

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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

杏仁蛋白 ELISA 检测试剂盒

用于定量分析杏仁蛋白的酶联免疫吸附试验 (ELISA)。

产品说明及预期用途

3M™ 杏仁蛋白 ELISA 检测试剂盒用于检测在位清洗水 (CIP) 末次漂洗水、环境拭子样品、食品配料和加工食品产品中的杏仁蛋白。



3M 杏仁蛋白 ELISA 检测试剂盒采用夹心 ELISA。样品中存在的杏仁蛋白,与聚苯乙烯微量滴定孔表面已经包被的杏仁抗体发生反应。通过冲洗去除未结合蛋白后,添加与辣根过氧化物酶 (HRP) 共轭的杏仁抗体。这些酶标抗体与之前结合的杏仁蛋白形成络合物。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杏仁蛋白的浓度成正比变化;因此,450 nm 时的吸光值可用来衡量检测样品中杏仁蛋白的浓度。可通过标准曲线推测检测样品中杏仁蛋白的量,该标准曲线通过已知浓度的蛋白绘制,并且可根据样品稀释情况进行调整。

3M 杏仁蛋白 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,3M 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,3M 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 3M 杏仁蛋白 ELISA 检测试剂盒。

3M 杏仁蛋白 ELISA 检测试剂盒包含 96 个检测孔,如表 1 所述。

表 1. 检测盒组件

| 项目 | 标识 | 准备工作 (请参见“试剂准备” 部分了解详细信息) | 存放 | 稳定性 |
|--|--|--|---|---|
| 3M™ 杏仁蛋白 ELISA 检测孔  | 一个铝箔袋,内含有 96 个带 有抗体涂层的可拆卸孔。 | 即用型。 | 在 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。 |
| 3M™ 杏仁 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)。 | 在使用前进行10倍 稀释,以制备 1X 工作 溶液。 | 在 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。 |
| 3M™ 杏仁蛋白标准浓 缩液  | 一瓶已知浓度的杏仁蛋白。 | 请参阅 ELISA 操 作程序部分了解标准物 制备。 | 2-8°C。请勿 冰冻。 | 3M 杏仁蛋白标准浓缩液在 检测试剂盒到期日期之前 很稳定。 |
| 3M™ 稀释液 (5X)  | 一瓶 50 mL 的 5X 稀释液。 | 使用前进行5倍稀释, 以制备 1X 工作溶液。 | 2-8°C | 5X 3M 稀释缓冲液在检测 试剂盒到期日期之前很稳 定。 |
| 3M™ 冲洗溶液 (20X)  | 一瓶 50 mL 的 20X 冲洗溶 液。 | 20倍稀释以制备 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 3M 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。 |
| 3M™ 提取缓冲液 E26 (4X)  | 一瓶 120 mL 的 4X 提取缓 冲液。 | 4倍稀释以制备 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 3M 提 取缓冲液浓缩 液均存储在 2-8°C 下。 | 1X 提取缓冲液和 4X 3M 提 取缓冲液在检测试剂盒的 到期日期之前很稳定。 |

| | | | | |
|---|------------------------------------|------|----------------|------------------------------|
| 3M™ 显色底物溶液  | 一瓶 12 mL 的 3,3',5,5'-四甲基联苯胺 (TMB)。 | 即用型。 | 在 2-8°C 下避光存储。 | 避光。3M 显色底物溶液在检测试剂盒到期日期之前很稳定。 |
| 3M™ 停止溶液  | 一瓶 12 mL 的 0.3 M 硫酸。 | 即用型。 | 2-8°C | 3M 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 的精密滴管和移液器枪头
- 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 3M 杏仁蛋白 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

为了减少与化学品接触相关联的风险，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，实验室良好操作规范¹ 或 ISO 17025²。
- 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 3M 停止溶液，请参阅安全数据表了解其他安全信息。

为了减少因被污染产品释放而导致的相关假阴性结果的风险：

- 请按照包装和产品信息中的指示存储 3M 杏仁蛋白 ELISA 检测试剂盒。
- 将 3M 杏仁蛋白 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说明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 3M 杏仁蛋白 ELISA 检测试剂盒，3M 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，3M 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 3M 杏仁蛋白 ELISA 检测试剂盒。
- 始终在 20-25°C 的温度下使用 3M 杏仁蛋白 ELISA 检测试剂盒浓缩试剂制备工作溶液。
- 请勿冷冻 3M 杏仁蛋白标准浓缩液。
- 如果显色底物溶液变蓝，请勿使用。遵循实验室良好操作规范¹ 以避免 3M 显色底物溶液交叉污染。

注意事项

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。
- 按照实验室良好操作规范¹ 处理 3M 杏仁蛋白标准以防止样品交叉污染。

请参阅材料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.3M.com/foodsafety，也可与您当地的 3M 代表或经销商联系以获得帮助。

用户责任

用户负责熟悉产品说明和信息。请访问我们的网站 www.3M.com/foodsafety 或联系您当地的 3M 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。

检测方法 & 结果能否满足客户及供应商的要求也由用户负责。

同所有检测方法一样,使用任何 3M 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,3M 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 3M 食品安全产品存在缺陷,3M 或其授权经销商可以进行换货或者由其决定是否该产品进行退款。这些都是专门针对您而设计的解决方案。您必须在发现产品中存在任何可疑缺陷的 60 天内立即通知 3M,并将该产品退还给 3M。请致电客户服务部门(1-800-328-1671 美国)或联系您的 3M 食品安全官方代表以获得退货 授权。

3M 责任限制

3M 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 3M 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。

贮藏和弃置

在 2-8°C 下存储所有 3M 杏仁蛋白 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 3M 杏仁蛋白 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. 3M 提取缓冲液

若要制备 1X 提取缓冲液,添加一份 3M 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. 3M 稀释溶液

若要制备 1X 稀释溶液,将一份 3M 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. 3M 冲洗溶液

若要制备 1X 冲洗溶液,将一份 3M 冲洗溶液 (20X) 添加到 19 份去离子水或蒸馏水。每个 3M ELISA 检测孔需要大约 2.5 mL 的 1X 冲洗溶液。

注意: 当存储在 2-8°C 下时,3M 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,在水浴或培养箱中将 3M 冲洗溶液 (20X) 预热到 30-35°C。

d. 3M 杏仁 HRP 共轭剂

若要制备 1X 杏仁 HRP 共轭剂,添加一份 3M 杏仁 HRP 共轭剂 (10X) 并在 9 份 1X 稀释溶液中稀释。现用现配。每个 3M ELISA 检测孔需要 100 µL 的 1X 杏仁 HRP 共轭剂。

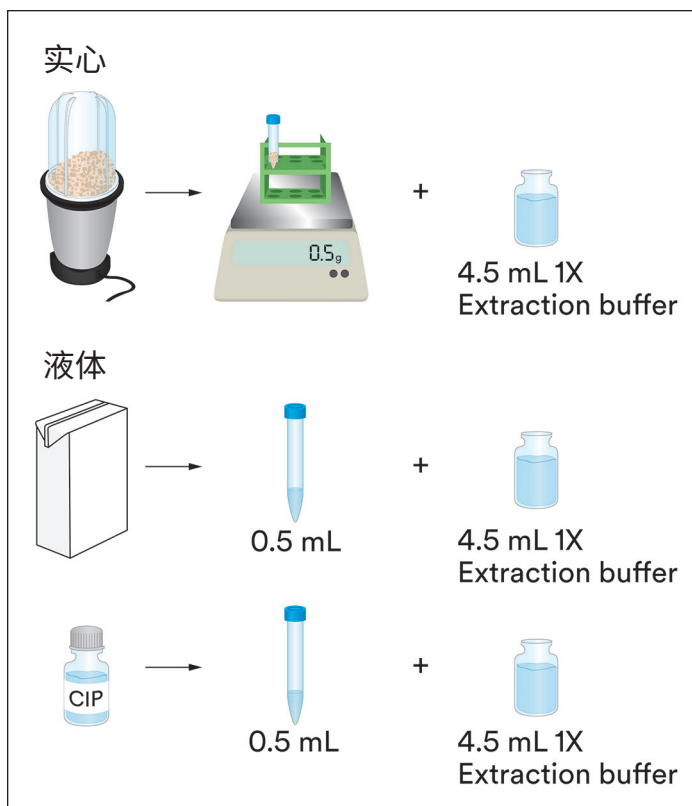
样品制备

注意: 应使用已预热到 50-60°C 的 1X 提取缓冲液提取所有样品。

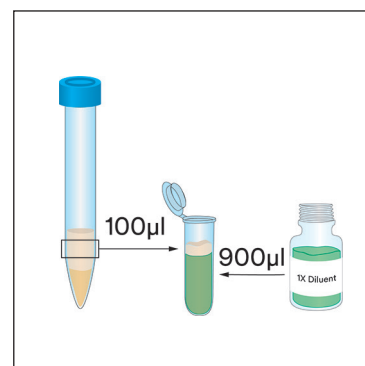
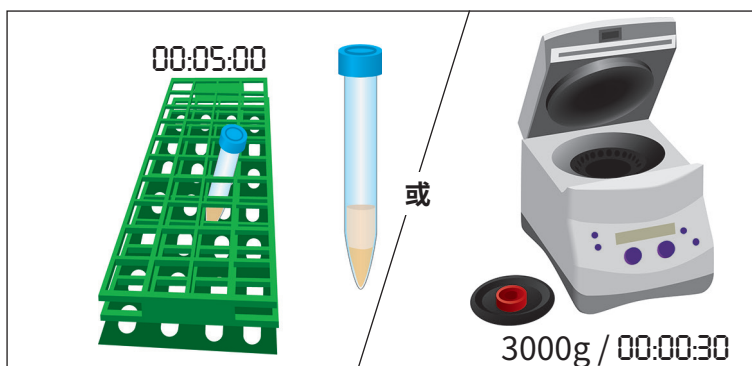
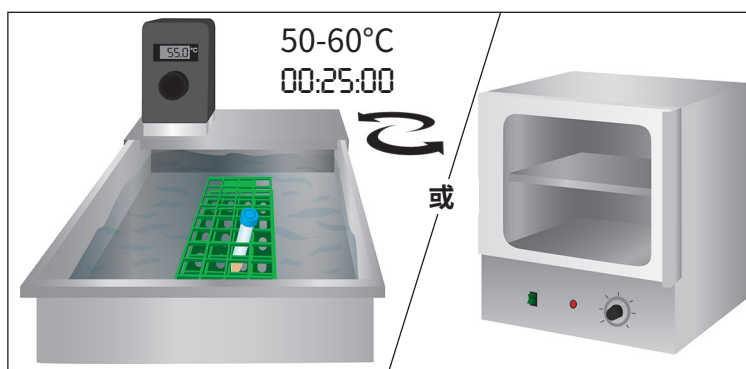
1.1 根据表 2 所述在洁净的试管或一次性试管中制备用于蛋白提取的样品。

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 |
| 在位清洗 (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箱中培养 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箱中, 并每隔 5 分钟手动摇晃 1 分钟。
- 1.3 培养后, 在 5000-7000 rpm ($3000 \times g$) 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 μ L 并将其添加到 900 μ L 的稀释缓冲液 (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/或标准物取出一个 3M ELISA 检测孔，并将检测孔置于检测孔支架中。将未使用的 3M 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 使用稀释缓冲液 (1X)，将 3M™ 杏仁蛋白标准浓缩液梯度稀释为四个浓度的标准物。

| 标准物编号 | 标准物浓度 (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 μ L 的 3M 杏仁蛋白标准浓缩液 | 990 μ L |
| 3 | 90 | 200 μ L 的标准物编号 4 | 400 μ L |
| 2 | 30 | 200 μ L 的标准物编号 3 | 400 μ L |
| 1 | 10 | 200 μ L 的标准物编号 2 | 400 μ L |
| 0 | 0 | 0 | 400 μ L |

2.3 用滴管将 100 μ L 的每个标准物转移到 3M ELISA 检测孔中。

- 标准物 0 (1X 稀释缓冲液)
- 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 μ L 在 1.4 中制备的样品提取物转移到 3M ELISA 检测孔中。

2.5 在环境温度下 (20-25°C)，将 3M ELISA 检测孔置于设为 400 rpm 的定轨振荡器中 30 \pm 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 孵育后，吸取 3M ELISA 检测孔的内容物。

2.7 使用 1X 冲洗溶液将 3M ELISA 检测孔完全充满并抽吸。如果手动进行冲洗，倒置测试板并将内容物倾倒/抖落至废物容器中，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。

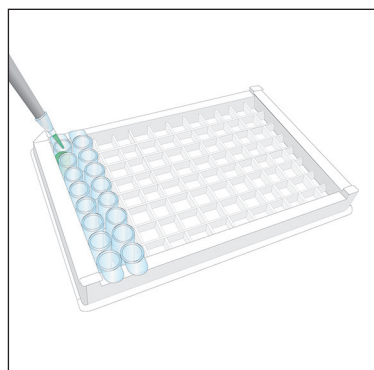
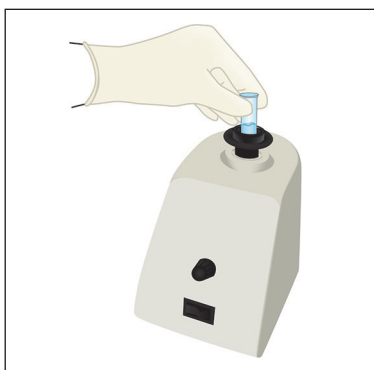
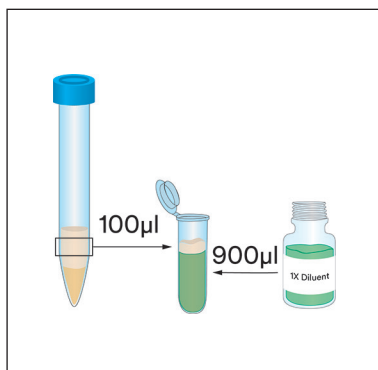
2.8 用滴管将 100 μ L 的 1X 杏仁 HRP 共轭剂转移到每个 3M ELISA 检测孔中。在环境温度下，置于设为 400 rpm 的定轨振荡器中振荡 10 \pm 2 分钟。在此步骤中将测试板盖住、避光并保持水平。

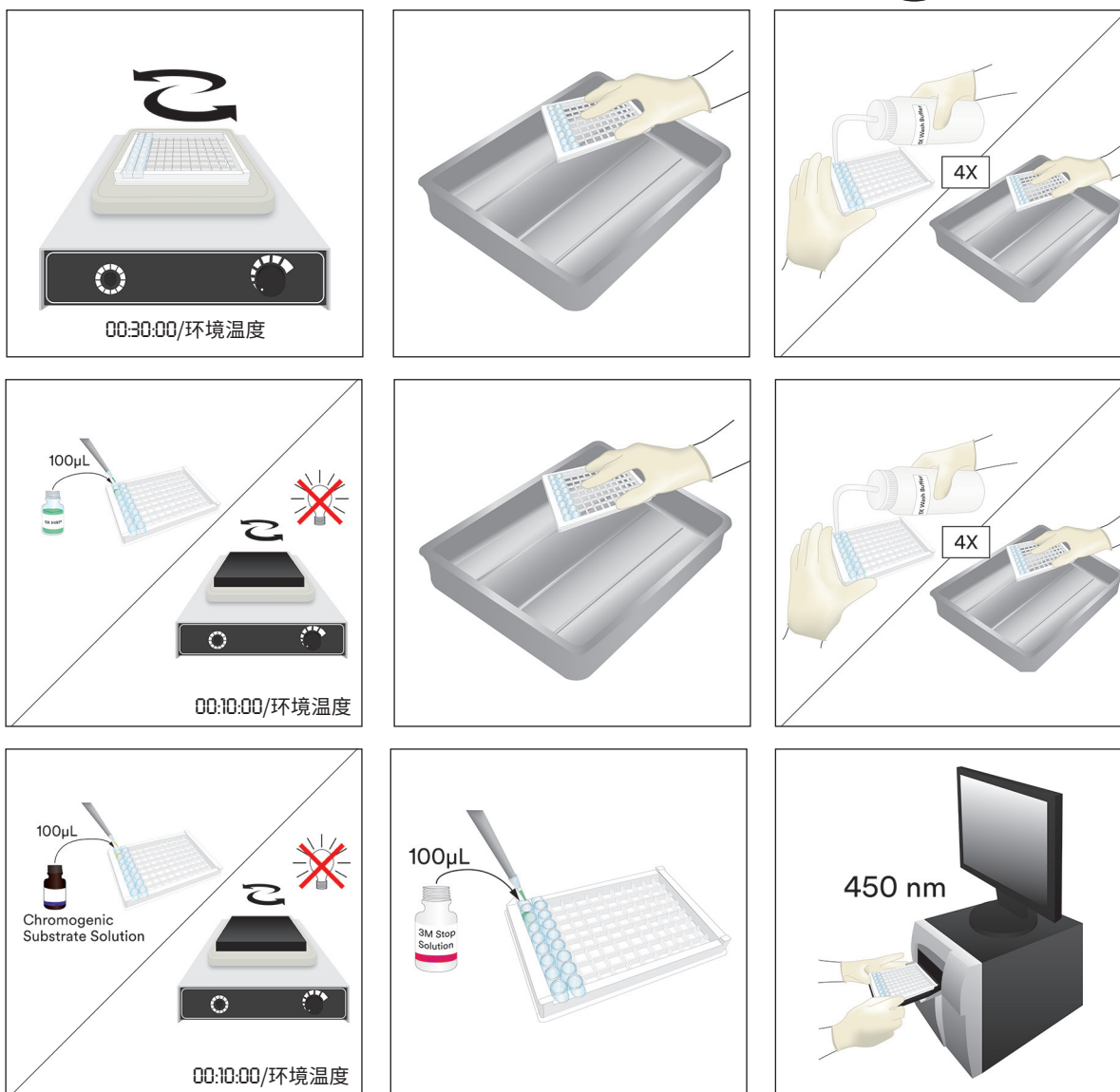
2.9 重复步骤 2.6 和 2.7 以便使用冲洗溶液 (1X) 完成总共四次冲洗。

2.10 用滴管将 100 μ L 的 3M 显色底物溶液 (TMB) 转移到每个 3M ELISA 检测孔中。

2.11 在环境温度下，置于设为 400 rpm 的定轨振荡器中振荡 10 分钟。在此步骤中将测试板盖住、避光并保持水平。

2.12 孵育后，向每个 3M ELISA 检测孔中添加 100 μ L 的 3M 停止溶液并在 30 分钟内检测吸光值 (在 450 nm 时)。





结果分析

- 3.1 每个样品吸光值扣除平均背景值(样品的平均吸光值读数减去标准物 0 的平均吸光值读数。)
- 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光值读数来绘制标准曲线。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,乘以样品稀释倍数,得到原始样品的浓度。例如,如果样品的总稀释为 1/100,并且标准曲线计算的样品浓度是 200 ng/mL (ppb),则最终样品浓度是 $200 \text{ ng/mL} \times 100 = 20,000 \text{ ng/mL (ppb)}$,即 $20 \mu\text{g/mL (ppm)}$ 。

最低性能特征

- a. 检测限 (LOD) 是 1.9 ng/mL (ppb)

检测限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。可通过将三倍标准偏差与四十八次标准物 0 重复的平均吸光值相加,并计算相应浓度来确定此检测限。

- b. 定量限 (LOQ) 是 1 ppm

定量限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 |



特异性和交叉反应性

本检测试剂盒识别杏仁蛋白并已针对不同样品对交叉反应性进行测试(表 3.)

表 3. 3M 杏仁蛋白 ELISA 检测试剂盒的交叉反应性。

| 基质样品 | 交叉反应性 % |
|--------|---------|
| 杏仁粉 | (+) |
| 杏仁乳 | (+) |
| β-乳球蛋白 | <1% |
| 牛乳酪蛋白 | <1% |
| 牛乳 | <1% |
| 巴西果 | <1% |
| 荞麦粉 | <1% |
| 腰果 | <1% |
| 芹菜 | <1% |
| 鹰嘴豆 | <1% |
| 椰子粉 | <1% |
| 椰奶 | <1% |
| 玉米粉 | <1% |
| 鱼小清蛋白 | <1% |
| 榛子 | <1% |
| 青豆 | <1% |
| 夏威夷果 | <1% |
| 芥菜籽 | <1% |
| 卵类粘蛋白 | <1% |
| 豌豆提取物 | <1% |
| 花生粉 | <1% |
| 胡桃 | <1% |
| 松子 | <1% |
| 开心果粉 | <1% |
| 南瓜籽 | <1% |
| 扇贝 | <1% |
| 芝麻籽 | <1% |
| 虾 | <1% |
| 高粱粉 | <1% |
| 大豆粉 | <1% |
| 豆浆 | <1% |
| 葵花籽 | <1% |
| 核桃 | <1% |



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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebaude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

คำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์

ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากอัลมอนต์

เอ็นไซม์-ลิงค์อิมมูโนซอร์เบนต์แอสเซย์ (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของอัลมอนต์

รายละเอียดผลิตภัณฑ์และวัตถุประสงค์การใช้งาน

3M™ ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากอัลมอนต์ออกแบบมาเพื่อตรวจจับโปรตีนอัลมอนต์ในน้ำล้างสุดท้ายของการทำความสะอาดแบบไม่ถอดชิ้นส่วน (Clean-in-Place (CIP)) ตัวอย่าง swab สิ่งแวดล้อม ส่วนผสมในอาหาร และผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูป






3M ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากอัลมอนต์ใช้ ELISA แบบแซนวิช โปรตีนของอัลมอนต์ที่อยู่ในตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีจำเพาะสำหรับอัลมอนต์ ซึ่งติดซึมไว้ที่พื้นผิวของหลุมพอลิสไตรีนไมโครไทเทรเตอร์แล้ว หลังจากล้างโปรตีนที่ไม่ยึดเกาะออกแล้ว แอนติบอดีจำเพาะสำหรับอัลมอนต์ที่จับคู่กับฮอรัสเรดิคัลเปอร์ออกซิเดส (HRP) จะถูกเติมลงไป แอนติบอดีที่ติดแน่นด้วยเอ็นไซม์เหล่านี้จะก่อปฏิกิริยาประกอบเชิงซ้อนกับโปรตีนของอัลมอนต์ที่ยึดเกาะก่อนหน้านี้ หลังจากขั้นตอนการล้างครั้งที่สอง การเติมสารโครโมเจนิก, 3,3',5,5'-เตตระเมทิลเบนซิดีน (TMB) จะทำให้ตรวจพบเอ็นไซม์ที่ยึดเกาะกับอิมมูโนซอร์เบนต์ การพัฒนาของสีจากปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับเอ็นไซม์นี้แปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของโปรตีนอัลมอนต์ในตัวอย่างที่ทดสอบ ดังนั้น ค่าการดูดกลืนที่ 450 นาโนเมตร จึงเป็นค่าความเข้มข้นของโปรตีนอัลมอนต์ที่วัดได้ในตัวอย่างทดสอบ ปริมาณของโปรตีนอัลมอนต์ในตัวอย่างทดสอบสามารถนำมาเทียบกับเส้นโค้งมาตรฐาน ที่สร้างขึ้นจากมาตรฐานของความเข้มข้นที่ทราบ และปรับตามการเจือจางของตัวอย่าง

3M ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากอัลมอนต์ออกแบบมาเพื่อใช้ในสภาพแวดล้อมห้องปฏิบัติการโดยผู้ชำนาญการที่ได้รับการฝึกอบรมด้านเทคนิคห้องปฏิบัติการ 3M ยังไม่ได้จัดทำเอกสารเกี่ยวกับการใช้ผลิตภัณฑ์นี้ในอุตสาหกรรมอื่น ๆ นอกจากอุตสาหกรรมอาหารหรือเครื่องดื่ม ตัวอย่างเช่น 3M ยังไม่ได้จัดทำเอกสารเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์นี้สำหรับการทดสอบตัวอย่างยา ตัวอย่างเครื่องสำอาง ตัวอย่างทางคลินิก หรือตัวอย่างเกี่ยวกับสัตว์ 3M ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากอัลมอนต์ยังไม่ได้ทำการประเมินกับผลิตภัณฑ์อาหาร กระบวนการแปรรูปอาหาร และระเบียบการทดสอบที่เป็นไปได้ทั้งหมด

3M ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากอัลมอนต์ประกอบด้วย 96 หลุม ตามที่อธิบายในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์

| รายการ | ลักษณะ | การจัดเตรียม (ดูรายละเอียดในส่วนการเตรียมน้ำยา) | การเก็บรักษา | ความเสถียร |
|--|---|--|--|--|
| 3M™ หลุม ELISA ตรวจหาโปรตีนของอัลมอนต์ | 1 ถังฟอยล์ จะประกอบด้วยเพลทเคลือบแอนติบอดีแบบถอดได้ 96 หลุม | พร้อมใช้งาน | 2-8°C ในถังฟอยล์ที่ซีลพร้อมกับสารดูดความชื้น | ซีลถังฟอยล์ที่บรรจุหลุมและสารดูดความชื้นที่ยังไม่ได้ใช้งาน จัดเก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C เพื่อรักษาความเสถียรจนถึงวันหมดอายุของชุดทดสอบ |
| 3M™ คอนจูเกต HRP ของอัลมอนต์ (10X) | แอนติบอดี (10X) ที่จับคู่กับฮอรัสเรดิคัลเปอร์ออกซิเดส (HRP) 10X ขนาด 1.5 มล. หนึ่งขวดแก้ว | เจือจาง 1/10 ทันทีก่อนใช้งานเพื่อทำสารละลายสำหรับใช้งาน 1X | 2-8°C ในที่มืด | คอนจูเกต 10X มีความเสถียรจนถึงวันหมดอายุของชุดทดสอบ |
| 3M™ น้ำยามาตรฐานโปรตีนของอัลมอนต์ | โปรตีนของอัลมอนต์ที่ทราบความเข้มข้นหนึ่งขวดแก้ว | โปรดดูการเตรียมสารมาตรฐานในส่วนขั้นตอน ELISA | 2-8°C ห้ามแช่แข็ง | 3M น้ำยามาตรฐานโปรตีนของอัลมอนต์มีความเสถียรจนถึงวันหมดอายุของชุดทดสอบ |

| | | | | |
|---|---|--|---|--|
| 3M™ สารทำให้เจือจาง (5X)  | สารทำให้เจือจาง 5X ขนาด 50 มล. หนึ่งขวด | เจือจาง 1/5 ทันทีก่อนใช้งานเพื่อให้ได้สารละลายที่ใช้งาน 1X | 2-8°C | 3M บัฟเฟอร์การเจือจาง 5X มีความเสถียรจนถึงวันหมดอายุของชุดทดสอบ |
| 3M™ สารละลายสำหรับใช้ล้าง (20X)  | สารละลายสำหรับใช้ล้าง 20X ขนาด 50 มล. หนึ่งขวด | เจือจาง 1/20 เพื่อให้ได้สารละลายสำหรับใช้งาน 1X | 2-8°C สำหรับทั้งสารละลายสำหรับใช้งาน 1X และน้ำยาเข้มข้นของสารละลายสำหรับใช้ล้าง 20X | 3M สารละลายสำหรับใช้ล้าง 20X มีความเสถียรจนถึงวันหมดอายุของชุดทดสอบ สารละลายสำหรับใช้ล้าง 1X มีความเสถียรเป็นเวลาอย่างน้อยหนึ่งสัปดาห์หลังจากการเตรียม |
| 3M™ บัฟเฟอร์สำหรับการสกัด E26 (4X)  | บัฟเฟอร์สำหรับการสกัด 4X ขนาด 120 มล. หนึ่งขวด | เจือจาง 1/4 เพื่อทำสารละลายสำหรับใช้งาน 1X สารละลายสำหรับใช้งานควรนำมาอุ่นที่ 50-60°C ก่อนใช้งาน | 2-8°C สำหรับทั้งสารละลายสำหรับใช้งาน 1X และ 3M น้ำยาบัฟเฟอร์การสกัด 4X | บัฟเฟอร์การสกัด 1X และ 3M บัฟเฟอร์การสกัด 4X มีความเสถียรจนถึงวันหมดอายุของชุดทดสอบ |
| 3M™ สารละลายตั้งต้นโครโมเจนิก  | 3,3',5,5'-เตตระเมทิลเบนซิดีน (TMB) ขนาด 12 มล. หนึ่งขวด | พร้อมใช้งาน | 2-8°C ในที่มืด | ป้องกันให้พ้นจากแสง 3M สารละลายตั้งต้นโครโมเจนิก มีความเสถียรจนถึงวันหมดอายุของชุดทดสอบ |
| 3M™ สารละลายสำหรับใช้หยุด  | กรดซัลฟิวริก 0.3 M ขนาด 12 มล. หนึ่งขวด | พร้อมใช้งาน | 2-8°C | 3M สารละลายสำหรับใช้หยุด มีความเสถียรจนถึงวันหมดอายุของชุดทดสอบ |

วัสดุที่ไม่ได้จัดมาให้ในชุดทดสอบ:

- ปิเปตและปิเปตทิปที่มีความแม่นยำสำหรับการเก็บสาร 10 ถึง 100 ไมโครลิตร
- หลอดทดลอง
- เครื่องล้าง/เครื่องดูดไมโครโทเทอร์เพลท
- น้ำกลั่นหรือน้ำที่ขจัดไอออน
- เครื่องอ่านไมโครโทเทอร์เพลท
- อุปกรณ์สำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการชนิดต่าง ๆ สำหรับการเตรียมน้ำยาและสารละลายบัฟเฟอร์
- นาฬิกาจับเวลา
- เครื่องผสมสารแบบหมุนวน
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าหรือตุ้มพะเพาะเชื้อแบบเขย่า
- เครื่องเขย่าสารแนวราบ

ความปลอดภัย

ผู้ใช้ควรอ่าน ทำความเข้าใจ และปฏิบัติตามข้อมูลด้านความปลอดภัยทั้งหมดในคำแนะนำสำหรับ 3M ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากอัลมอนต์ เก็บคำแนะนำด้านความปลอดภัยนี้ไว้สำหรับใช้อ้างอิงในอนาคต

คำเตือน: แสดงสถานการณ์ที่เป็นอันตราย ซึ่งหากไม่หลีกเลี่ยง อาจก่อให้เกิดการเสียชีวิตหรือการบาดเจ็บรุนแรงและ/หรือความเสียหายต่อทรัพย์สิน

ข้อสังเกต: ระบุสถานการณ์ที่อาจเป็นอันตราย หากไม่หลีกเลี่ยง อาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อทรัพย์สิน

▲ คำเตือน

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสสารเคมี ให้ปฏิบัติตามนี้

- กำจัดทิ้งตามระเบียบและมาตรฐานอุตสาหกรรม/ท้องถิ่น/ภูมิภาค/ประเทศในปัจจุบัน
- ผู้ใช้ต้องฝึกอบรมบุคลากรของตนเกี่ยวกับเทคนิคการทดสอบที่เหมาะสมในปัจจุบัน ตัวอย่างเช่น แนวทางในการปฏิบัติที่ดีของห้องปฏิบัติการ (Good Laboratory Practices)¹ หรือ ISO 17025²
- ปฏิบัติตามแนวทางในการปฏิบัติด้านความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการมาตรฐานเสมอ รวมถึงการสวมชุดป้องกันสารเคมีและอุปกรณ์ป้องกันดวงตาที่เหมาะสมในขณะที่จัดการกับน้ำยา
- หลีกเลี่ยงอย่าให้ผิวหนังสัมผัสกับ 3M สารละลายสำหรับใช้หยด ดูเอกสารข้อมูลความปลอดภัยสำหรับข้อมูลด้านความปลอดภัยเพิ่มเติม

คำแนะนำเพื่อลดความเสี่ยงได้ผลการวิเคราะห์แบบลบลบปลอมที่นำไปสู่การปล่อยผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อนออกไป:

- จัดเก็บ 3M ชุดทดสอบ ELISA ตรวจสอบโปรตีนจากอัลมอนด์ตามที่ระบุไว้ในบรรจุภัณฑ์และในคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์
- ใช้ 3M ชุดทดสอบ ELISA ตรวจสอบโปรตีนจากอัลมอนด์สำหรับอาหารและตัวอย่างในสิ่งแวดล้อมที่ผ่านการตรวจสอบจากหน่วยงานภายในหรือภายนอกแล้ว
- ปฏิบัติตามระเบียบการและดำเนินการทดสอบตามที่ระบุไว้อย่างชัดเจนในคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์
- 3M ยังไม่ได้จัดทำเอกสารเกี่ยวกับการใช้ 3M ชุดทดสอบ ELISA ตรวจสอบโปรตีนจากอัลมอนด์ในอุตสาหกรรมอื่น ๆ นอกจากอุตสาหกรรมอาหารหรือเครื่องดื่ม ตัวอย่างเช่น 3M ยังไม่ได้ออกเอกสารเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์นี้สำหรับการทดสอบตัวอย่างยา ตัวอย่างเครื่องสำอาง ตัวอย่างทางคลินิก หรือตัวอย่างเกี่ยวกับสัตว์

คำแนะนำเพื่อลดความเสี่ยงเกี่ยวกับผลที่ไม่ถูกต้องแม่นยำที่นำไปสู่การปล่อยผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อนออกไป:

- ใช้ 3M ชุดทดสอบ ELISA ตรวจสอบโปรตีนจากอัลมอนด์ก่อนวันหมดอายุเสมอ
- จัดเตรียมสารละลายสำหรับใช้งานโดยใช้ใช้น้ำยาเข้มข้นของ 3M ชุดทดสอบ ELISA ตรวจสอบโปรตีนจากอัลมอนด์ที่อุณหภูมิ 20-25°C เสมอ
- ห้ามแช่แข็ง 3M น้ำยามาตรฐานโปรตีนของอัลมอนด์
- ห้ามใช้งาน หากสารละลายตั้งต้นโครโมเจนเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน ปฏิบัติตามแนวทางในการปฏิบัติที่ดีของห้องปฏิบัติการ¹ เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้ามของ 3M สารละลายตั้งต้นโครโมเจน

ข้อสังเกต

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับผลที่ไม่ถูกต้องแม่นยำ ให้ปฏิบัติตามนี้

- ความเสถียรของตัวอย่างหลังจากการสกัดยังไม่ได้ประเมิน ควรทำขั้นตอน ELISA ทันทีหลังจากการสกัดตัวอย่าง
- จัดการ 3M สารมาตรฐานโปรตีนของอัลมอนด์ตามแนวทางในการปฏิบัติที่ดีของห้องปฏิบัติการ¹ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนข้ามของตัวอย่าง

ศึกษาเอกสารข้อมูลด้านความปลอดภัยของวัสดุหากต้องการทราบข้อมูลเพิ่มเติม

หากต้องการข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับเอกสารประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ โปรดเข้าไปที่เว็บไซต์ของเราที่ www.3M.com/foodsafety หรือติดต่อตัวแทนบริษัท 3M หรือตัวแทนจำหน่ายในท้องถิ่น

ความรับผิดชอบของผู้ใช้

ผู้ใช้งานจะต้องทำความเข้าใจในคู่มือการใช้งานผลิตภัณฑ์และข้อมูลเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ หากต้องการข้อมูลเพิ่มเติม สามารถเยี่ยมชมเว็บไซต์ของเรา www.3M.com/foodsafety หรือติดต่อตัวแทน 3M ในพื้นที่ของท่าน

วิธีการทดสอบทั้งหมดที่ใช้ในการวิเคราะห์อาหาร เมตริกซ์การทดสอบจะส่งผลต่อผลการทดสอบด้วย เมื่อจะเลือกวิธีการทดสอบสำคัญอย่างยิ่งที่จะต้องรู้จักปัจจัยภายนอกต่างๆ เช่น วิธีการสุ่มตัวอย่าง เกณฑ์วิธีในการทดสอบ การเตรียมตัวอย่าง การจัดการควบคุมและเทคนิคในห้องปฏิบัติการซึ่งอาจส่งผลต่อผลลัพธ์ที่ได้ ตัวอย่างอาหารเองก็อาจจะส่งผลต่อผลการทดสอบเช่นกัน

ผู้ใช้งานมีหน้าที่เลือกวิธีการทดสอบหรือผลิตภัณฑ์ใด ๆ มาประเมินจำนวนตัวอย่างที่เหมาะสมที่จะทำให้วิธีการทดสอบที่เลือกไว้ตรงตามเกณฑ์ของผู้ใช้

นอกจากนี้ ผู้ใช้ยังมีหน้าที่รับผิดชอบในการตัดสินใจว่าวิธีการทดสอบและผลลัพธ์ที่ได้ใดๆ ก็ตามเป็นไปตามข้อกำหนดของลูกค้าและของผู้จัดส่งสินค้าหรือไม่

เช่นเดียวกับวิธีการทดสอบอื่นๆ ผลลัพธ์ที่ได้จากการใช้ผลิตภัณฑ์ในกลุ่ม 3M Food Safety ใดก็ตามไม่ได้ก่อให้เกิดการรับประกันถึงคุณภาพของวิธีการหรือขั้นตอนที่ใช้ทดสอบ

เงื่อนไขการรับประกัน

3M ปฏิเสธการรับประกันทั้งหมดทั้งอย่างชัดแจ้งและโดยนัย รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการรับประกันใดๆ ถึงความสามารถในการจำหน่ายหรือความเหมาะสมสำหรับการใช้งานโดยเฉพาะ เว้นแต่จะได้อธิบายไว้อย่างชัดแจ้งในส่วนการรับประกันแบบจำกัดว่าด้วยบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์แต่ละชิ้น ถ้าเกิดข้อบกพร่องหรือความเสียหายกับสินค้าในกลุ่ม 3M Food Safety Product ทาง 3M หรือตัวแทนจำหน่าย

ที่ได้รับอนุญาตจะทำการเปลี่ยนสินค้า หรือคืนเงิน แล้วแต่กรณี และถือเป็นการชดเชยเพียงอย่างเดียวเท่านั้น ถ้าเกิดข้อบกพร่องหรือความเสียหายกับสินค้า ท่านต้องแจ้งกับทาง 3M ภายใน 60 วัน และทำการคืนสินค้าที่เสียหายให้ทาง 3M โปรดติดต่อแผนกบริการลูกค้า (1-800-328-1671 ในสหรัฐฯ) หรือตัวแทนของ 3M Food Safety เพื่อขออนุมัติการคืนสินค้า

ขอบเขตความรับผิดชอบของ 3M

3M จะไม่รับผิดชอบต่อการสูญเสียหรือความเสียหายใดๆ ทั้งโดยตรง โดยอ้อม ความเสียหายจำเพาะ ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการผิดสัญญา หรือที่เป็นผลสืบเนื่อง รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการสูญเสียผลกำไร ความรับผิดชอบของทาง 3M ในทางกฎหมายจะต้องไม่เกินราคาของผลิตภัณฑ์ที่เสียหายหรือบกพร่องไม่ว่ากรณีใดๆ ก็ตาม

การเก็บรักษา และการกำจัด

จัดเก็บภาชนะบรรจุ 3M ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากอัลมอนต์ที่อุณหภูมิ 2-8°C ห้ามแช่แข็ง จัดเก็บสารละลายสำหรับใช้งานที่เจือจางแล้วตามที่อธิบายในตารางที่ 1

ต้องไม่ใช้ส่วนประกอบ 3M ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากอัลมอนต์หลังจากวันที่หมดอายุ วันหมดอายุและหมายเลขล็อตจะแสดงไว้บนฉลากด้านนอกของกล่อง

กำจัดทั้งตามระเบียบและมาตรฐานอุตสาหกรรม/ท้องถิ่น/ภูมิภาค/ประเทศในปัจจุบัน

คำแนะนำการใช้งาน

ปฏิบัติตามคำแนะนำทั้งหมดอย่างละเอียดรอบคอบ หากไม่ปฏิบัติตามนั้น อาจให้ผลที่ไม่ถูกต้องแม่นยำได้

การเตรียมน้ำยา

นำน้ำยาทั้งหมดออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้อง (20-25°C) ก่อนใช้งาน ใช้ภาชนะสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการที่สะอาดสำหรับเจือจางและจัดเก็บสารละลายสำหรับใช้งาน

ก. 3M บัฟเฟอร์การสกัด

การเตรียมบัฟเฟอร์การสกัด 1X ให้เติม 3M บัฟเฟอร์การสกัด (4X) หนึ่งส่วน และเจือจางในน้ำกลั่นหรือน้ำที่ขจัดไอออนสามส่วนอุ่นบัฟเฟอร์การสกัด (1X) ล้างหน้าจนถึงอุณหภูมิ 50-60°C ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิหรือตุ้มบ่มเพาะเชื้อแบบเขย่าก่อนใช้งาน ตัวอย่างแต่ละอันต้องใช้บัฟเฟอร์การสกัด 1X ขนาด 4.5 มล.

ข. 3M สารละลายทำให้เจือจาง

การเตรียมสารละลายทำให้เจือจาง 1X ให้เติม 3M สารทำให้เจือจาง (5X) หนึ่งส่วน ลงในน้ำกลั่นหรือน้ำที่ขจัดไอออนสี่ส่วน ตัวอย่างแต่ละอันต้องใช้สารละลายทำให้เจือจาง 1X ขนาด 4.5 มล. ทั้งหมด

ค. 3M สารละลายสำหรับใช้ล้าง

การเตรียมสารละลายสำหรับใช้ล้าง 1X ให้เติม 3M สารละลายสำหรับใช้ล้าง (20X) หนึ่งส่วน ลงในน้ำกลั่นหรือน้ำที่ขจัดไอออน 19 ส่วน หลุม 3M ELISA แต่ละหลุมต้องใช้สารละลายสำหรับใช้ล้าง 1X ขนาด 2.5 มล. โดยประมาณ

หมายเหตุ: อาจมีการเกิดผลึกใน 3M สารละลายสำหรับใช้ล้าง (20X) เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C การละลายผลึก ให้อุ่น 3M สารละลายสำหรับใช้ล้าง (20X) จนถึงอุณหภูมิ 30-35°C ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิหรือตุ้มบ่มเพาะเชื้อก่อนการเตรียมสารละลายสำหรับใช้ล้าง (1X)

ง. 3M คอนจูเกต HRP ของอัลมอนต์

การเตรียมคอนจูเกต HRP ของอัลมอนต์ 1X ให้เติม 3M คอนจูเกต HRP ของอัลมอนต์ (10X) หนึ่งส่วน และเจือจางในสารละลายทำให้เจือจาง 1X ในปริมาณ 9 ส่วน เตรียมทันทีก่อนใช้งาน หลุม 3M ELISA แต่ละหลุมต้องใช้คอนจูเกต HRP ของอัลมอนต์ 1X ขนาด 100 ไมโครลิตร

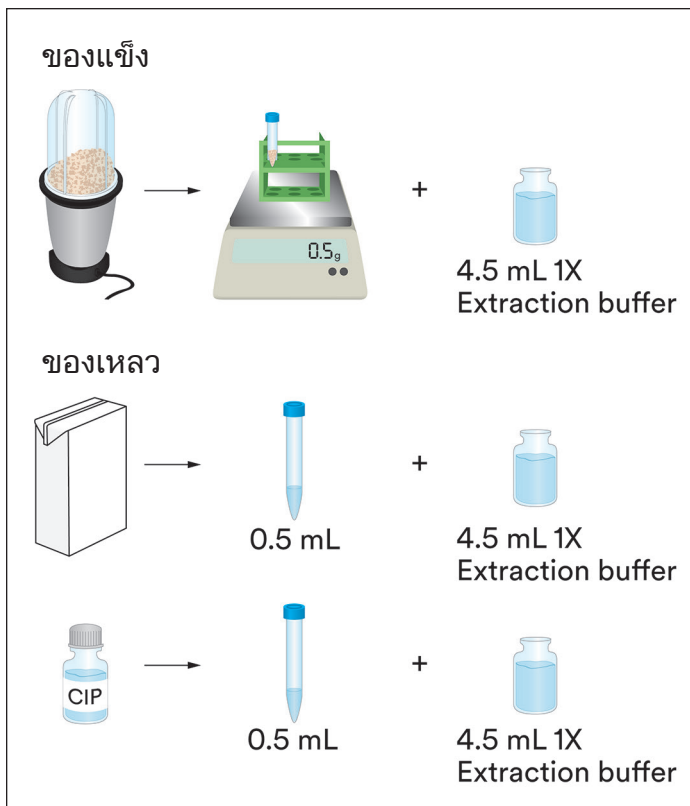
การเตรียมตัวอย่าง

หมายเหตุ: ตัวอย่างทั้งหมดต้องสกัดด้วยบัฟเฟอร์การสกัด 1X ที่อุ่นล่วงหน้าแล้วจนถึงอุณหภูมิ 50-60°C

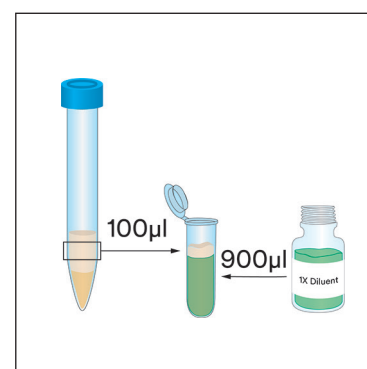
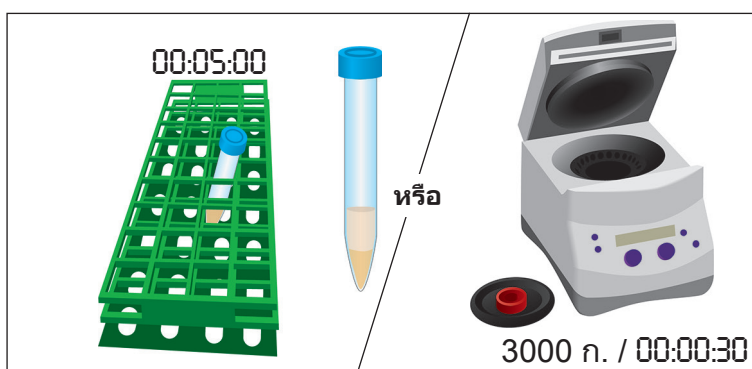
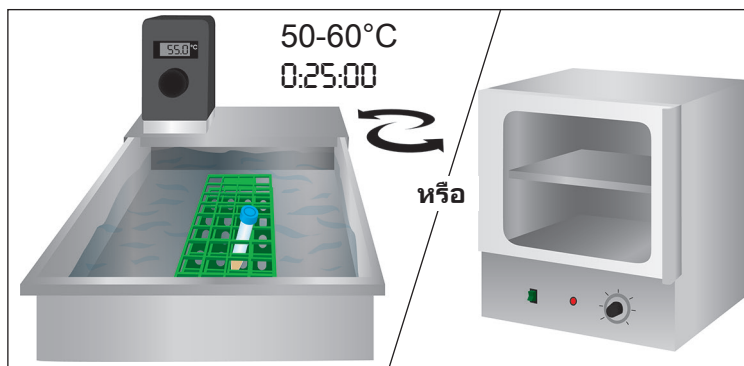
1.1 เตรียมตัวอย่างสำหรับการสกัดโปรตีนในหลอดทดลองที่สะอาดหรือหลอดทดลองแบบบางตามที่อธิบายไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การเตรียมตัวอย่าง

| เมทริกซ์ตัวอย่าง | 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 บ่มเพาะเชื้อตัวอย่างที่เจือจางแล้วในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าหรือตุ้มบ่มเพาะเชื้อแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 50-60°C เป็นเวลา 25 ± 1 นาที อีกทางเลือกคือปล่อยตัวอย่างไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิหรือตุ้มบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 50-60°C และเขย่าด้วยมือเป็นเวลา 1 นาที ทุก ๆ 5 นาที
- 1.3 หลังจากการบ่มเพาะเชื้อแล้ว หมุนเหวี่ยงตัวอย่างที่ 5000-7000 รอบต่อนาที (3000 x g.) เป็นเวลา 20 ถึง 30 วินาที เพื่อให้อนุภาคจับเป็นก้อนหรือปล่อยให้ตกตะกอนเป็นเวลา 5 นาทีในตะแกรงใส่หลอดทดลอง
- 1.4 เก็บ 100 ไมโครลิตร จากระดับกลาง (ประกอบด้วยน้ำ) แล้วเติมลงในบัฟเฟอร์การเจือจาง (1X) ขนาด 900 ไมโครลิตร หมุนวนหรือเขย่าเพื่อผสมให้เข้ากัน (ซึ่งจะเท่ากับ การเจือจาง 1/100 ของตัวอย่างเดิม)



ขั้นตอน ELISA

- 2.1 นำหลุม 3M ELISA ออกหนึ่งหลุมต่อตัวอย่างและ/หรือสารมาตรฐาน แล้ววางหลุมไว้ในที่วางหลุม นำหลุม 3M ELISA ที่ไม่ได้ใช้ เก็บคืนไว้ในถุงฟอยล์ ซิลิโคนแล้วนำกลับไปเก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C
- 2.2 การใช้ 3M™ น้ำยามาตรฐานโปรตีนของอัลมอนด์ ให้เตรียมสารมาตรฐานสี่หน่วยที่เจือจางแล้วในบัฟเฟอร์การเจือจาง (1X) หนึ่งชุด

| หมายเลขมาตรฐาน | ความเข้มข้นมาตรฐาน (นาโนกรัม/มล.) | ปริมาตรของสารมาตรฐานที่เติมลงในสารทำให้เจือจาง 1X | ปริมาตรของสารละลายทำให้เจือจาง 1X |
|----------------|--------------------------------------|---|-----------------------------------|
| 4 | 270 | น้ำยามาตรฐานของ 3M โปรตีนอัลมอนด์ 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 ปิเปิดสารมาตรฐานแต่ละชนิด 100 ไมโครลิตร ลงในหลุม 3M ELISA

- สารมาตรฐาน 0 (บัฟเฟอร์การเจือจาง 1X)
- สารมาตรฐาน 1 (10 นาโนกรัม/มล.) ส่วนต่อพื้นล้านส่วน
- สารมาตรฐาน 2 (30 นาโนกรัม/มล.) ส่วนต่อพื้นล้านส่วน
- สารมาตรฐาน 3 (90 นาโนกรัม/มล.) ส่วนต่อพื้นล้านส่วน
- สารมาตรฐาน 4 (270 นาโนกรัม/มล.) ส่วนต่อพื้นล้านส่วน

2.4 ปิเปิดตัวอย่างที่สกัดและเตรียมไว้ในข้อ 1.4 100 ไมโครลิตร ลงในหลุม 3M ELISA

- 2.5 บ่มเพาะเชื้อ หลุม 3M ELISA ในเครื่องเขย่าสารแนวราบที่ตั้งค่าที่ 400 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (20-25°C) เป็นเวลา 30 ± 2 นาที ครบหลุมไว้และรักษาระดับให้อยู่ในระดับเดียวกันในระหว่างขั้นตอนนี้เพื่อป้องกันการระเหย

2.6 หลังจากการบ่มเพาะเชื้อ ดูดสารของหลุม 3M ELISA

- 2.7 เติมน้ำ 3M ELISA 1X แต่ละหลุมให้เต็มด้วยสารละลายสำหรับใช้ล้างและสารที่ดูดขึ้นมา หากทำการล้างด้วยมือ ให้กลับด้าน แพลทแล้วเท/เขย่าสารทิ้งลงในถังขยะ และเคาะหลุมอย่างรวดเร็วบนกระดาษซับเพื่อขจัดสารละลายสำหรับใช้ล้างที่ตกค้าง ทำซ้ำขั้นตอนนี้สามครั้งเพื่อล้างทั้งหมดสี่ครั้ง

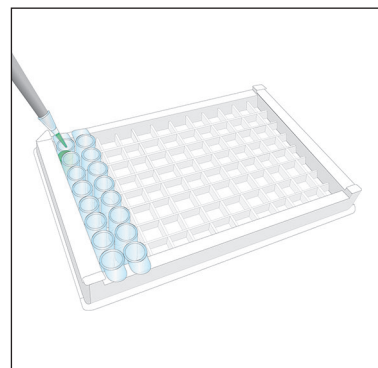
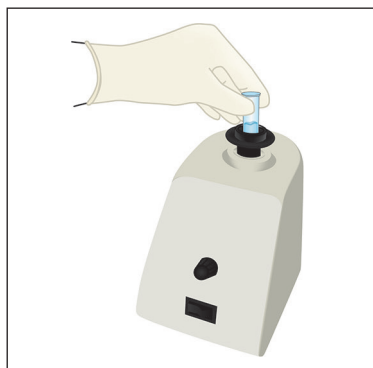
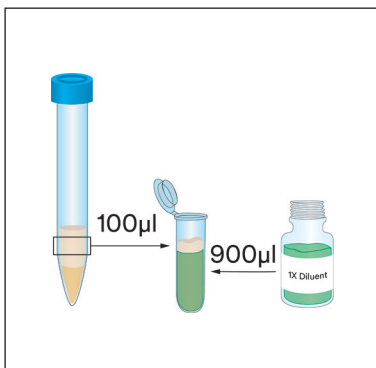
- 2.8 ปิเปิดคอนจูเกต HRP ของอัลมอนด์ 1X ขนาด 100 ไมโครลิตร ลงในหลุม 3M ELISA แต่ละหลุม บ่มเพาะเชื้อในเครื่องเขย่าสารแนวราบที่ตั้งค่าที่ 400 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 ± 2 นาที ครบหลุมไว้ในที่มืดและรักษาให้อยู่ในระดับเดียวกันระหว่างขั้นตอนนี้

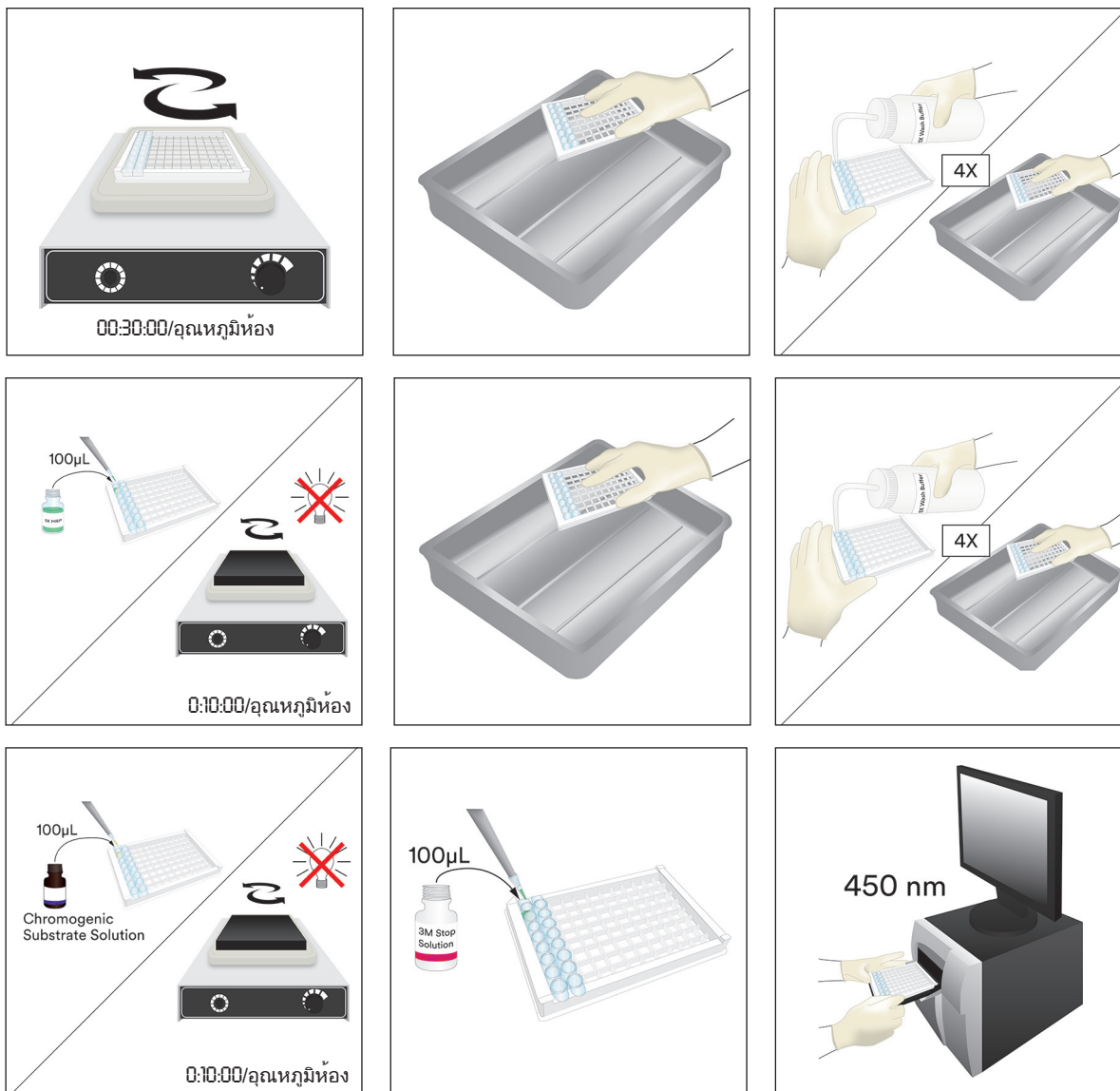
2.9 ทำซ้ำขั้นตอนที่ 2.6 และ 2.7 เพื่อให้ล้างครบทั้งหมดสี่ครั้งด้วยสารละลายสำหรับใช้ล้าง (1X)

2.10 ปิเปิด 3M สารละลายตั้งต้นโครโมเจนิก (TMB) ขนาด 100 ไมโครลิตร ลงในหลุม 3M ELISA แต่ละหลุม

- 2.11 บ่มเพาะเชื้อในเครื่องเขย่าสารแนวราบที่ตั้งค่าที่ 400 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที ครบหลุมไว้ในที่มืดและรักษาให้อยู่ในระดับเดียวกันระหว่างขั้นตอนนี้

- 2.12 หลังจากการบ่มเพาะเชื้อ ให้เติม 3M สารละลายสำหรับใช้หยุด ขนาด 100 ไมโครลิตร ลงในหลุม 3M ELISA แต่ละหลุม แล้วพิจารณาการดูดซับ (ที่ 450 นาโนเมตร) ภายใน 30 นาที





การวิเคราะห์ผล

- 3.1 หักค่าพื้นหลังเฉลี่ยของตัวอย่างแต่ละตัวอย่าง (ค่าที่อ่านได้ของการดูดซับเฉลี่ยของตัวอย่างลบค่าที่อ่านได้ของการดูดซับเฉลี่ยของค่าศูนย์มาตรฐาน)
- 3.2 ใช้ซอฟต์แวร์คอมพิวเตอร์ที่สามารถสร้าง ฟิตเส้นโค้งโลจิสติกส์แบบสี่พารามิเตอร์ สร้างเส้นโค้งมาตรฐาน โดยการพล็อตความเข้มข้นในนาโนกรัม/มล. (ส่วนต่อพันล้านส่วน) บนแกน X และค่าการดูดซับที่อ่านได้ตามสารมาตรฐานแต่ละอย่างบนแกน Y นอกจากนี้ อาจใช้ฟิตเส้นโค้งพหุนามอันดับสอง (สมการกำลังสอง) หรือเส้นโค้งอื่น ๆ ได้ อย่างไรก็ตามฟิตเส้นโค้งเหล่านั้นอาจให้ข้อมูลที่แม่นยำน้อยกว่า
- 3.3 คำนวณความเข้มข้นของตัวอย่างจากเส้นโค้งมาตรฐาน หน่วยของผลลัพธ์คือนาโนกรัม/มล. (ส่วนต่อพันล้านส่วน) จากนั้น คูณด้วยตัวหารของการเจือจางตัวอย่างเพื่อทราบความเข้มข้นของตัวอย่างเดิม ตัวอย่างเช่น หากการเจือจางทั้งหมดของตัวอย่างคือ 1/100 และความเข้มข้นของตัวอย่างของเส้นโค้งมาตรฐานเท่ากับ 200 นาโนกรัม/มล. (ส่วนต่อพันล้านส่วน) ความเข้มข้นของตัวอย่างสุดท้ายจะเท่ากับ $200 \text{ นาโนกรัม/มล.} \times 100 = 20,000 \text{ นาโนกรัม/มล.}$ (ส่วนต่อพันล้านส่วน) ซึ่งเท่ากับ 20 ไมโครกรัม/มล. (ส่วนต่อล้านส่วน)

คุณลักษณะสมรรถนะขั้นต่ำ

- ก. ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจพบ (Limit of Detection (LOD)) เท่ากับ 1.9 นาโนกรัม/มล. (ส่วนต่อพันล้านส่วน)
ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจพบกำหนดเป็นความเข้มข้นต่ำสุดของสารก่อภูมิแพ้ในตัวอย่างที่ทดสอบที่สามารถจำแนกจากตัวอย่างแบลนด์จริงที่ระดับความน่าจะเป็นที่ระบุ³ ซึ่งกำหนดโดยการเพิ่มค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสามค่าลงในค่าความขุ่นกลางของค่าซ้ำศูนย์มาตรฐานสี่สิบแปดค่า และการคำนวณความเข้มข้นที่เกี่ยวข้อง
- ข. ปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานค่าเป็นตัวเลข (Limit of Quantification (LOQ)) เท่ากับ 1 ส่วนต่อล้านส่วน
ปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานค่าเป็นตัวเลขกำหนดเป็นระดับต่ำสุดของสารก่อภูมิแพ้ในตัวอย่างที่ทดสอบที่สามารถรายงานเป็นตัวเลขที่ระดับความแม่นยำที่ระบุ³



ความแม่นยำ

| | | |
|-----------------------------------|---------------------|------|
| ความแม่นยำภายในสารที่ใช้วิเคราะห์ | ค่าเฉลี่ย %CV = <10 | N=12 |
| ความแม่นยำระหว่างสารที่วิเคราะห์ | ค่าเฉลี่ย %CV = <10 | N=12 |

ข้อมูลจำเพาะและปฏิกิริยาข้าม

ชุดทดสอบนี้มีความจำเพาะกับโปรตีนของอัลมอนต์และผ่านการทดสอบปฏิกิริยาข้ามกับตัวอย่างชนิดต่าง ๆ แล้ว (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ปฏิกิริยาข้ามของ 3M ชุดทดสอบ ELISA ตรวจหาโปรตีนจากอัลมอนต์

| ตัวอย่างเมทริกซ์ | % ปฏิกิริยาข้าม |
|------------------|-----------------|
| แป้งอัลมอนต์ | (+) |
| นมอัลมอนต์ | (+) |
| BLG | <1 % |
| เคซีนจากวัว | <1 % |
| นมโบริน | <1 % |
| ถั่วบราซิล | <1 % |
| แป้งบัควีท | <1 % |
| มะม่วงหิมพานต์ | <1 % |
| ขึ้นฉ่าย | <1 % |
| ถั่วลูกไก่ | <1 % |
| แป้งมะพร้าว | <1 % |
| กะทิ | <1 % |
| แป้งข้าวโพด | <1 % |
| พาวาลูมินจากปลา | <1 % |
| เฮเซลนัท | <1 % |
| ถั่วลิมา | <1 % |
| ถั่วแมคคาเดเมีย | <1 % |
| เมล็ดมัสตาร์ด | <1 % |
| โอโวมิวคอยด์ | <1 % |
| ถั่วลิ้นเตาสกัด | <1 % |
| แป้งถั่วลิสง | <1 % |
| พีแคน | <1 % |
| เมล็ดสน | <1 % |
| แป้งพิตาชิโอ | <1 % |
| เมล็ดฟักทอง | <1 % |
| หอยเชลล์ | <1 % |
| เมล็ดงา | <1 % |
| กุ้ง | <1 % |
| แป้งซอร์กัม | <1 % |
| แป้งถั่วเหลือง | <1 % |
| นมถั่วเหลือง | <1 % |
| เมล็ดทานตะวัน | <1 % |
| วอลนัท | <1 % |

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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

아몬드 단백질 ELISA 키트

아몬드 단백질 정성 분석을 위한 효소 결합 면역 흡착 측정(ELISA)

제품 설명 및 용도

3M™ 아몬드 단백질 ELISA 키트는 제자리 세정(CIP) 최종 행굼물, 주변물 면봉 시료, 식품 성분 및 가공 식품에서 아몬드 단백질을 검출하기 위해 고안되었습니다.

3M 아몬드 단백질 ELISA 키트는 샌드위치 ELISA를 활용합니다. 시료에 있는 아몬드 단백질이 폴리스티렌 미량 정량 시료판의 표면에 흡착된 항아몬드 항체와 반응합니다. 세척을 통해 비결합 단백질을 제거하면 겨자무과산화효소(HRP)와 결합된 항아몬드 항체가 추가됩니다. 이러한 효소 표지 항체는 이전에 결합된 아몬드 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 아몬드 단백질 농도에 따라 직접적으로 달라집니다. 따라서 450nm라는 흡수율은 시험 시료의 아몬드 단백질 농도를 측정할 값입니다. 시험 시료에 포함된 아몬드 단백질의 양은 표준 곡선을 바탕으로 추정하고, 알려진 농도의 표준으로 구성하고, 시료 희석을 고려하도록 조정할 수 있습니다.




3M 아몬드 단백질 ELISA 키트는 실험실 기법에 대해 교육을 받은 전문가가 실험실 환경에서 사용하도록 고안되었습니다. 3M은 식품이나 음료가 아닌 다른 산업에서의 이 제품 사용을 문서화하지 않았습니다. 즉 3M은 약품, 화장품, 임상 또는 수의학 시료 시험에 대해서는 이 제품을 문서화하지 않았습니다. 3M 아몬드 단백질 ELISA 키트는 가능성 있는 모든 식료품, 식품 가공 및 시험 프로토콜에서 평가를 거친 것이 아닙니다.

3M 아몬드 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 |
|---|---|--|---|---|
| 3M™ 아몬드 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. |
| 3M™ 아몬드 HRP 결합 (10X)  | 1.5mL의 10X 겨자무과산화효소(HRP) 결합 항체(10X)가 들어 있는 바이알 1개. | 사용 직전에 1/10 로 희석해 1X의 작업 용액을 만듭니다. | 2~8°C의 어두운 곳에 보관합니다. | 10X 결합은 키트의 유효 기간까지 안정적입니다. |
| 3M™ 아몬드 단백질 표준 농축액  | 알려진 아몬드 단백질 농도의 바이알 1개. | 표준 준비에 대해서는 ELISA 절차 섹션을 참조하십시오. | 2~8°C. 동결시키지 마십시오. | 3M 아몬드 단백질 표준 농축액은 키트의 유효 기간까지 안정적입니다. |
| 3M™ 희석액(5X)  | 50mL의 5X 희석액이 담긴 병 1개. | 사용 직전에 1/5로 희석해 1X의 작업 용액을 만듭니다. | 2~8°C | 5X 3M 희석 버퍼는 키트의 유효 기간까지 안정적입니다. |
| 3M™ 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 3M 세척액은 키트의 유효 기간까지 안정적입니다. 1X 세척액은 준비 후 최소 1주간 안정적입니다. |



| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 3M™ 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 3M 농축 추출 버퍼 모두 2~8°C에서 보관합니다. | 1X 추출 버퍼 및 4X 3M 추출 버퍼는 키트의 유효 기간까지 안정적입니다. |
| 3M™ 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. 3M 발색 기질 용액은 키트의 유효 기간까지 안정적입니다. |
| 3M™ 정지액  | 12mL의 0.3M 황산이 든 병 1개. | 사용할 준비를 합니다. | 2~8°C | 3M 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 3M 아몬드 단백질 ELISA 키트 사용 설명서에 있는 모든 안전 관련사항을 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 기준¹ 또는 ISO 17025² 등의 적절한 최신 시험 기법을 교육해야 합니다.
- 시약을 다룰 때는 적절한 보호복과 보안경 착용을 비롯하여 항상 표준 실험실 안전 방침을 준수하십시오.
- 3M 정지액이 피부에 닿지 않도록 하십시오. 자세한 안전 정보는 안전 데이터 시트를 참조하십시오.

오염된 제품의 방출로 이어지는 위음성 결과와 관련된 위험을 줄이려면:

- 3M 아몬드 단백질 ELISA 키트를 보관할 때는 포장 및 제품 설명서에 명시된 바를 따릅니다.
- 3M 아몬드 단백질 ELISA 키트를 내부 또는 제3자의 확인을 거친 식품 및 주변물 시료에 사용하십시오.
- 프로토콜을 준수하고 제품 설명서에 명시된 대로 정확하게 시험을 수행하십시오.
- 3M은 식품이나 음료 외 산업에 대해서는 3M 아몬드 단백질 ELISA 키트 사용을 문서화하지 않았습니다. 즉 3M은 약물, 화장품, 임상 또는 수의학 시료 시험에 대해서는 이 제품을 문서화하지 않았습니다.

오염된 제품의 방출로 이어지는 부정확한 결과가 발생할 위험을 줄이려면:

- 3M 아몬드 단백질 ELISA 키트는 언제나 유효 기간 내에 사용하십시오.
- 3M 아몬드 단백질 ELISA 키트 농축액 시약은 항상 20~25°C 온도에서 사용하여 작업 용액을 준비하십시오.
- 3M 아몬드 단백질 표준 농축액을 동결시키지 마십시오.
- 발색 기질 용액이 파란색으로 변했다면 사용하지 마십시오. 3M 발색 기질 용액의 교차 오염을 방지하기 위해 우수 실험실 관리 기준¹을 준수하십시오.



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 기준¹에 따라 3M 아몬드 단백질 표준을 취급하십시오.

자세한 정보는 안전 데이터 시트를 참고하십시오.

제품 성능 관련 문서에 관해서는 당사 웹사이트(www.3M.com/foodsafety)를 확인하거나 현지 3M 대리점 또는 판매점에 문의하십시오.

사용자의 책임

사용자는 제품 사용법과 정보를 숙지할 책임이 있습니다. 보다 자세한 정보는 당사의 웹사이트 www.3M.com/foodsafety 를 참고하거나 현지 3M이나 영업 대리점으로 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 사용자는 모든 시험 방법 및 결과가 고객 및 공급자의 요구사항을 충족하는지 판단할 책임이 있습니다.

다른 시험 방법과 마찬가지로 3M Food Safety 제품을 사용하여 얻은 결과가 시험된 매트릭스나 프로세스의 품질을 보장하는 것은 아닙니다.

보증의 한계 / 제한적 구제

개별 제품 포장의 제한적 보증 부분에 명시된 경우를 제외하고, 3M은 상품성 또는 특정 용도 적합성에 대한 보증을 포함한 어떤 명시적이거나 암묵적인 보증도 거부합니다. 3M Food Safety 제품에 결함이 있을 경우, 3M이나 그의 공식 판매업체는 자체 판단에 따라 제품을 교체하거나 구매 금액을 환불해 드립니다. 이는 귀하의 배타적 구제책입니다. 제품에서 의심되는 결함이 발견되면 발견일로부터 60일 이내에 3M으로 즉시 통지하고, 제품을 3M으로 반품해야 합니다. 고객센터부(한국: 080-033-4114)나 3M Food Safety의 공식 대리점으로 전화하여 반품 인증 (Returned Goods Authorization)을 받으십시오.

3M 책임의 제한

3M은 수익의 상실을 포함하여 어떤 직접적인, 간접적인, 특별한, 부수적인, 결과적인 손해나 손실에 대해서도 책임지지 않습니다. 법 이론에 따른 3M의 책임은 어떤 경우에도 결함이 있다고 주장된 제품의 구매 대금을 초과하지 않습니다.

보관 및 폐기

3M 아몬드 단백질 ELISA 키트 내용물은 2~8°C에서 보관하십시오. 동결시키지 마십시오. 희석한 작업 용액은 표 1에 설명된 바와 같이 보관합니다.

유통 기한이 지난 3M 아몬드 단백질 ELISA 키트 구성요소는 사용해서는 안 됩니다. 유통기한과 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. 3M 추출 버퍼

1X 추출 버퍼를 준비하려면 3M 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. 3M 희석 용액

1X 희석 용액을 준비하려면 3M 희석제(5X) 1성분을 탈이온수 또는 증류수 4성분에 넣습니다. 각 시료에는 총 4.5mL의 1X 희석 용액이 필요합니다.

c. 3M 세척액

1X 세척액을 준비하려면 3M 세척액(20X) 1성분을 탈이온수 또는 증류수 19성분에 넣습니다. 각 3M ELISA 시료판에는 약 2.5mL의 1X 세척액이 필요합니다.

참고: 2~8°C에서 보관할 경우 3M 세척액(20X)에 결정이 형성될 수 있습니다. 결정을 용해하려면 세척액(1X)을 준비하기 전에 수조 또는 인큐베이터에서 3M 세척액(20X)의 온도를 30~35°C로 높입니다.

d. 3M 아몬드 HRP 결합

1X 아몬드 HRP 결합을 준비하려면 3M 아몬드 HRP 결합(10X) 1성분을 1X 희석 용액 9성분에 넣어 희석합니다. 사용 직전에 준비하십시오. 각 3M ELISA 시료판에는 100μL의 1X 아몬드 HRP 결합액이 필요합니다.

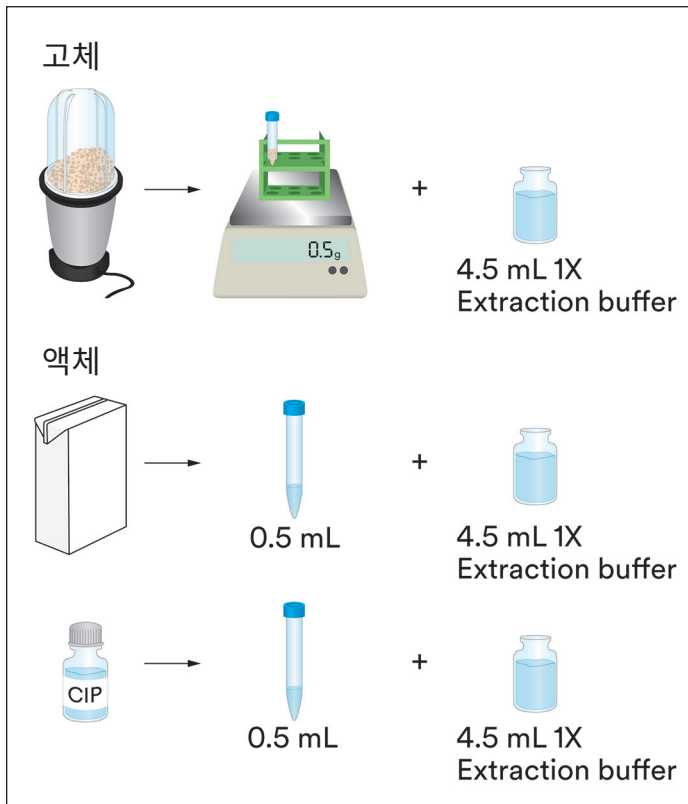
시료 준비

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

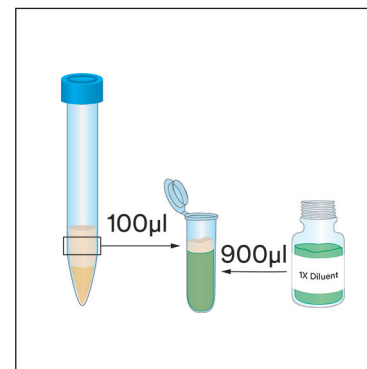
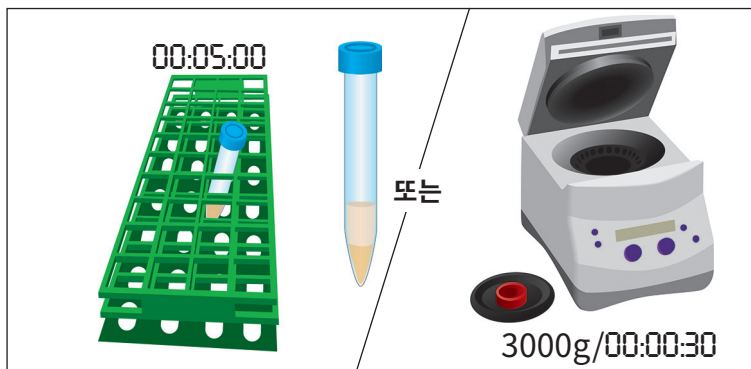
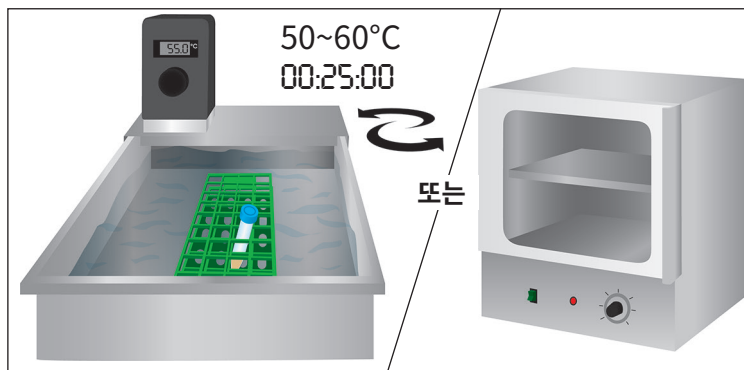
| 시료 매트릭스 | 시료 크기 | 희석(1/10) |
|--------------------|--------------|-----------------------------------|
| 고체 식품 | 0.5 ± 0.02g | 사전에 데워 둔 1X 추출 버퍼 4.5 ± 0.09mL 넣기 |
| 액체 식품 | 0.5 ± 0.01mL | 사전에 데워 둔 1X 추출 버퍼 4.5 ± 0.09mL 넣기 |
| 제자리 세척(CIP) 최종 행금물 | 0.5 ± 0.01mL | 사전에 데워 둔 1X 추출 버퍼 4.5 ± 0.09mL 넣기 |



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 버퍼(1X)에 넣습니다. 잘 혼합되도록 휘젓거나 흔듭니다(원래 시료의 1/100 희석분에 해당함).



ELISA 절차

2.1 시료 및/또는 표준당 1개의 3M ELISA 시료판을 제거하고 해당 시료판을 시료판 홀더에 놓습니다. 사용하지 않은 3M ELISA 시료판을 호일 파우치에 다시 넣고 재밀봉한 후 다시 2~8°C에서 보관합니다.

2.2 3M™ 아몬드 단백질 표준 농축액을 활용해 희석 버퍼(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 3M 아몬드 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 3M ELISA 시료판으로 옮깁니다.

- 표준 0(1X 희석 버퍼)
- 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 3M ELISA 시료판으로 옮깁니다.

2.5 실온(20~25°C)에서 30 ± 2분 동안 400rpm으로 설정한 케도 혼합기에서 3M ELISA 시료판을 배양합니다. 이 단계 중에 증발되는 것을 방지하기 위해 시료판을 덮어두고 높이를 유지하십시오.

2.6 배양 후에 3M ELISA 시료판의 내용물을 흡인합니다.

2.7 각 3M 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.

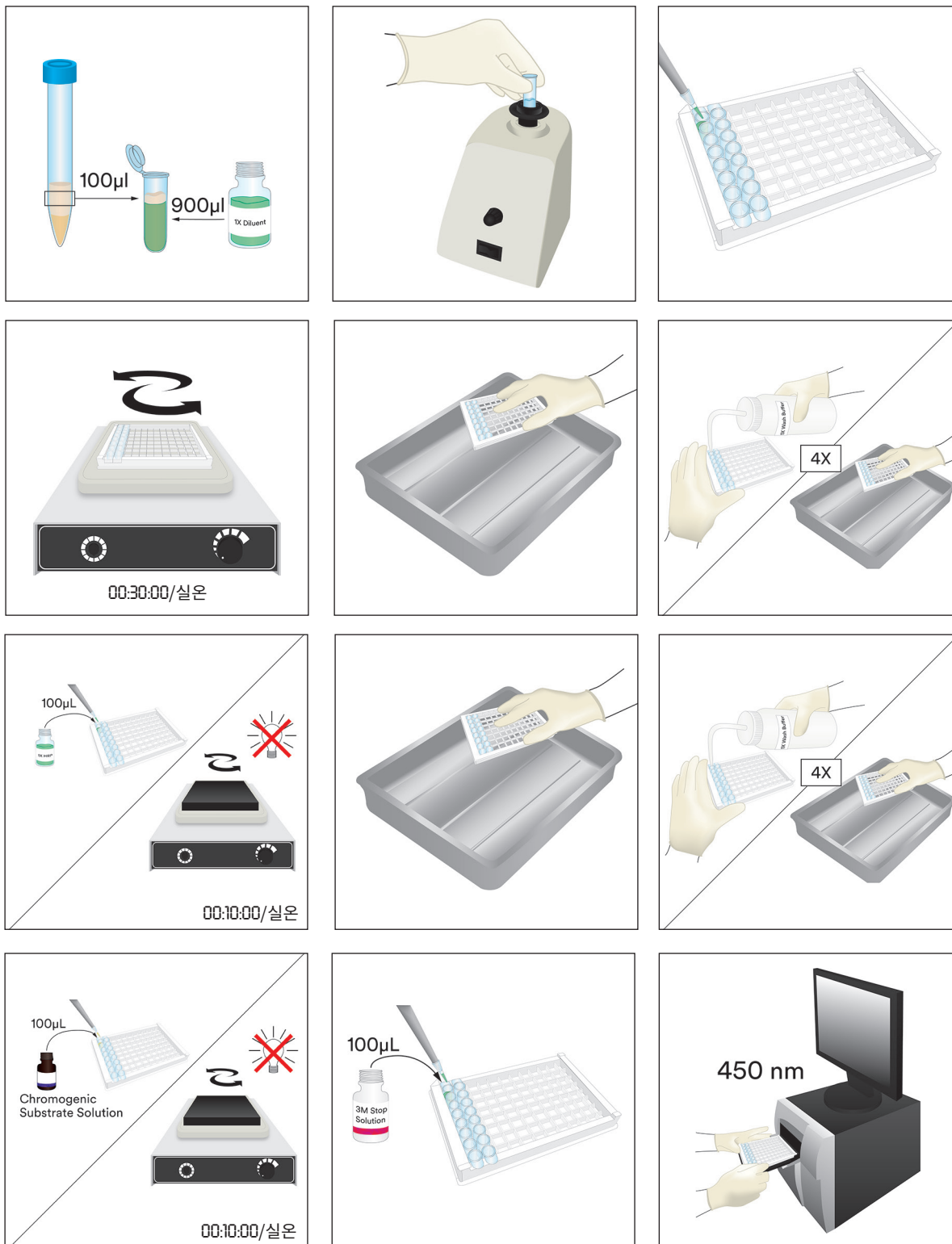
2.8 피펫으로 100µL의 1X 아몬드 HRP 결합액을 각 3M ELISA 시료판으로 옮깁니다. 실온에서 10 ± 2분 동안 400rpm으로 설정한 케도 혼합기에서 배양합니다. 이 단계 중에는 플레이트를 덮어 어둡게 하고 높이를 유지하십시오.

2.9 세척액(1X)으로 총 4번의 세척을 완료하기 위해 2.6단계와 2.7단계를 반복합니다.

2.10 피펫으로 100 μ L의 3M 발색 기질 용액(TMB)을 각 3M 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, 100 μ L의 3M 정지액을 각 3M 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 $200\text{ng/mL} \times 100 = 20,000\text{ng/mL(ppb)}$ 이며, 이것은 $20\mu\text{g/mL(ppm)}$ 입니다.

최소 성능 특성

- a. 검출 한계(LOD)는 1.9ng/mL(ppb)입니다.

검출 한계는 지정된 확률 수준에서 실제 바탕 시료와 구분될 수 있는 시험 시료의 알레르겐 최저 농도로 정의됩니다³. 이는 48 개의 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 정의됩니다³.

정밀도

| | | |
|----------|----------------|------|
| 키트 내 정밀도 | 평균 %CV = 10 미만 | N=12 |
| 키트 간 정밀도 | 평균 %CV = 10 미만 | N=12 |

특이성 및 교차 반응성

이 키트는 아몬드 단백질을 인식하며 교차 반응성을 위해 다양한 시료에 대한 시험을 거쳤습니다(표 3).

표 3. 3M 아몬드 단백질 ELISA 키트의 교차 반응성

| 매트릭스 시료 | % 교차 반응성 |
|-----------|----------|
| 아몬드 가루 | (+) |
| 아몬드 우유 | (+) |
| BLG | 1% 미만 |
| 소 카제인 | 1% 미만 |
| 소 우유 | 1% 미만 |
| 브라질 너트 | 1% 미만 |
| 메밀가루 | 1% 미만 |
| 캐슈 | 1% 미만 |
| 셀러리 | 1% 미만 |
| 병아리콩 | 1% 미만 |
| 코코넛 가루 | 1% 미만 |
| 코코넛 우유 | 1% 미만 |
| 옥수수가루 | 1% 미만 |
| 어류 파르브알부민 | 1% 미만 |
| 헤이즐넛 | 1% 미만 |
| 리마콩 | 1% 미만 |
| 마카다미아 너트 | 1% 미만 |
| 겨자씨 | 1% 미만 |
| 오보뮤코이드 | 1% 미만 |
| 콩 추출물 | 1% 미만 |
| 땅콩 가루 | 1% 미만 |
| 피칸 | 1% 미만 |
| 잣 | 1% 미만 |
| 피스타치오 가루 | 1% 미만 |
| 호박씨 | 1% 미만 |

| | |
|-------|-------|
| 가리비 | 1% 미만 |
| 참깨 | 1% 미만 |
| 새우 | 1% 미만 |
| 수숫가루 | 1% 미만 |
| 두유 가루 | 1% 미만 |
| 두유 | 1% 미만 |
| 해바라기씨 | 1% 미만 |
| 호두 | 1% 미만 |

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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

Petunjuk Produk

ELISA Kit Protein Almond

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)) untuk analisis kuantitatif protein almond.

Deskripsi Produk dan Penggunaan yang dimaksudkan





ELISA Kit Protein Almond 3M™ dimaksudkan untuk mendeteksi protein almond pada air bilasan akhir clean-in-place (clean-in-place water (CIP)), sampel swab lingkungan, bahan makanan, dan produk makanan olahan.

ELISA Kit Protein Almond 3M menggunakan sandwich ELISA. Protein almond dalam sampel bereaksi dengan antibodi anti-almond, yang telah diserap ke permukaan sumur mikrotiter polistiren. Setelah protein tak terikat diangkat dengan pencucian, ditambahkan konjugat antibodi anti-almond dengan Horseradish peroxidase (horseradish peroxidase (HRP)). Antibodi berlabel enzim ini membentuk kompleks dengan protein almond 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 almond dalam sampel yang diuji; dengan demikian, absorbansi, pada 450 nm, adalah ukuran konsentrasi protein almond pada sampel uji. Jumlah protein almond pada sampel uji dapat diekstrapolasi dari kurva standar (dibangun dari standar konsentrasi yang diketahui) dan disesuaikan untuk tindakan pengenceran sampel.





ELISA Kit Protein Almond 3M dimaksudkan untuk pemakaian di lingkungan laboratorium oleh para profesional yang terlatih dalam teknik laboratorium. 3M belum mendokumentasikan pemakaian produk ini di industri selain makanan atau minuman. Sebagai contoh, 3M belum mendokumentasikan produk ini untuk pengujian sampel farmasi, kosmetik, klinis, atau veterineri. ELISA Kit Protein Almond 3M belum dievaluasi pada seluruh kemungkinan produk makanan, proses makanan, dan protokol pengujian.

ELISA Kit Protein Almond 3M berisi 96 sumur, yang dijelaskan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komponen Kit

| Alat | Identifikasi | Persiapan (lihat detailnya pada bagian Persiapan Reagen) | Penyimpanan | Stabilitas |
|--|---|--|---|---|
| Wells 3M™ Protein Almond ELISA  | Satu kantong foil dengan plat berisi 96 wells berlapis antibodi yang dapat dilepas. | Siap pakai. | 2-8 °C dalam kantong foil disegel dengan desikan. | Kantong foil disegel ulang berisi wells dan desikan yang tidak terpakai. Simpan pada suhu 2-8 °C untuk menjaga stabilitas sampai tanggal kedaluwarsa kit. |
| 3M™ Almond HRP Conjugate (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. |
| 3M™ Almond Protein Standard Concentrate  | Satu vial berisi konsentrasi yang diketahui dari protein almond. | mengacu pada persiapan standar di Bagian Prosedur ELISA. | 2-8 °C. Jangan dibekukan. | 3M Almond Protein Standard concentrat stabil sampai tanggal kedaluwarsa kit. |
| 3M™ Diluent (5X)  | Satu botol berisi 50 ml Diluent 5X. | Encerkan 1/5 segera sebelum digunakan untuk membuat larutan kerja 1X. | 2-8 °C | 3M Diluent Buffer 5X stabil sampai tanggal kedaluwarsa kit. |



| | | | | |
|---|---|--|---|--|
| 3M™ Wash Solution (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 Wash Solution 20X. | 3M Wash Solution 20X stabil sampai tanggal kedaluwarsa kit. Wash Solution 1X stabil minimal satu minggu setelah persiapan. |
| 3M™ Extraction Buffer E26 (4X)  | Satu botol berisi 120 ml penyangga ekstraksi 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 3M Extraction Buffer 4X. | Penyangga Ekstraksi 1X dan 3M Extraction Buffer 4X stabil sampai tanggal kedaluwarsa kit. |
| 3M™ Chromogenic Substrate Solution  | Satu vial berisi 12 ml 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidin (TMB). | Siap pakai. | 2-8 °C dalam gelap. | Jauhkan dari cahaya. 3M Chromogenic Substrate Solution stabil sampai tanggal kedaluwarsa kit. |
| 3M™ Stop Solution  | Satu botol berisi 12 ml 0,3 M asam sulfat. | Siap pakai. | 2-8 °C | 3M Stop Solution stabil sampai tanggal kedaluwarsa kit. |

Bahan yang tidak disediakan 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
- Pewaktu
- Vorteks
- Shaking water bath atau shaking incubator
- Orbital shaker

Keamanan

Pengguna harus membaca, memahami, dan mengikuti informasi keselamatan dalam petunjuk ELISA Kit Protein Almond 3M. 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 terkait dengan paparan terhadap bahan kimia:

- Buang sesuai standar dan peraturan setempat/regional/nasional/industri yang berlaku.
- Pengguna harus melatih personelnnya dalam teknik pengujian yang tepat saat ini; misalnya, Good Laboratory Practices¹ atau ISO 17025².
- Patuhi praktik-praktik keselamatan laboratorium standar, termasuk memakai pakaian pelindung dan pelindung mata yang sesuai saat menangani reagen.
- Hindarkan kulit bersentuhan dengan 3M Stop Solution. Lihat informasi keselamatan tambahan pada lembar data keselamatan.

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan hasil yang negatif salah yang dapat menyebabkan pelepasan produk yang terkontaminasi:

- Simpan ELISA Kit Protein Almond 3M seperti yang ditunjukkan pada paket dan petunjuk produk.



- Gunakan ELISA Kit Protein Almond 3M 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.
- 3M belum mendokumentasikan penggunaan ELISA Kit Protein Almond 3M di industri selain makanan atau minuman. Sebagai contoh, 3M belum mendokumentasikan produk ini untuk pengujian sampel farmasi, kosmetik, klinis, atau veterineri.

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan hasil tak akurat yang dapat menyebabkan pelepasan produk yang terkontaminasi:

- Gunakan ELISA Kit Protein Almond 3M sebelum tanggal kadaluwarsanya.
- Siapkan larutan kerja menggunakan reagen terkonsentrasi ELISA Kit Protein Almond 3M pada suhu 20-25° C.
- Jangan bekukan 3M Almond Protein Standard Concentrate.
- Jika Chromogenic Substrate Solution berubah menjadi biru, jangan gunakan. Ikuti Good Laboratory Practices¹ untuk menghindari kontaminasi silang 3M Chromogenic Substrate Solution.

PERHATIAN

Untuk mengurangi risiko yang terkait dengan hasil tidak akurat:

- Stabilitas sampel setelah ekstraksi belum dievaluasi. Prosedur ELISA harus dijalankan tepat setelah ekstraksi sampel.
- Tangani 3M Almond Protein Standard mengikuti Good Laboratory Practices¹ untuk mencegah kontaminasi silang sampel.

Lihat informasi tambahan pada Lembar Data Keselamatan.

Untuk informasi mengenai dokumentasi kinerja produk, kunjungi situs web kami di www.3M.com/foodsafety, atau hubungi perwakilan atau distributor 3M terdekat.

Tanggung Jawab Pengguna

Pengguna bertanggung jawab untuk memahami instruksi dan informasi produk. Kunjungi situs web kami di www.3M.com/foodsafety, atau hubungi perwakilan atau distributor 3M setempat.

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 mempengaruhi hasilnya. Sampel makanan itu sendiri mungkin memengaruhi hasil.

Pengguna bertanggung jawab memilih metode pengujian atau produk untuk mengevaluasi jumlah sampel yang memadai untuk memuaskan pengguna yang memenuhi kriteria pengguna metode pengujian yang dipilih tersebut.

Pengguna juga bertanggung jawab untuk menentukan bahwa semua metode dan hasil pengujian memenuhi ketentuan pelanggan dan supplier.

Untuk semua metode pengujian, hasil yang diperoleh dari penggunaan produk Keselamatan Makanan 3M bukan merupakan jaminan kualitas terhadap matriks atau proses yang diujikan.

Pembatasan Garansi / Penggantian Terbatas

KECUALI SEBAGAIMANA DITENTUKAN DI BAGIAN GARANSI TERBATAS UNTUK SETIAP KEMASAN PRODUK, 3M 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 Keselamatan Makanan 3M yang cacat, 3M atau distributor resminya, sesuai kebijakannya, akan mengganti atau mengganti harga pembelian produk. Penggantian ini ditawarkan kepada Anda secara eksklusif. Anda harus segera melapor kepada 3M dalam waktu tiga puluh hari sejak menemukan adanya dugaan cacat pada produk dan harus mengembalikannya kepada 3M. Silakan hubungi Layanan Pelanggan (1-800-328-1671 di A.S.) atau perwakilan Keselamatan Makanan 3M resmi untuk mengetahui Pengesahan Barang yang Dikembalikan.

Pembatasan Tanggung Jawab 3M

3M 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, 3M tidak bertanggung jawab melebihi dari harga pembelian produk yang dinyatakan sebagai cacat.



Penyimpanan dan Pembuangan

Simpan isi ELISA Kit Protein Almond 3M pada suhu 2-8 °C. Jangan dibekukan. Simpan larutan kerja yang diencerkan seperti yang dijelaskan pada Tabel 1.

Komponen ELISA Kit Protein Almond 3M 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 mematuhi 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. 3M Extraction Buffer

Untuk menyiapkan Extraction Buffer 1X, tambahkan satu bagian 3M Extraction Buffer (4X) dan encerkan dalam tiga bagian air deionisasi atau suling. Hangatkan sebelumnya Extraction Buffer (1X) sampai suhu 50-60 °C dalam water bath atau shaking incubator sebelum digunakan. Setiap sampel memerlukan 4,5 ml Extraction Buffer 1X.

b. 3M Diluent Solution

Untuk menyiapkan larutan Diluent 1X, tambahkan satu bagian Pengencer 3M (5X) pada empat bagian air deionisasi atau suling. Setiap sampel memerlukan total 4,5 ml larutan Pengencer 1X.

c. 3M Wash Solution

Untuk menyiapkan Wash Solution 1X, tambahkan satu bagian 3M Wash Solution (20X) pada 19 bagian air deionisasi atau suling. Setiap 3M ELISA Well memerlukan sekitar 2,5 ml Wash Solution 1X.

Catatan: Pembentukan kristal pada 3M Wash Solution (20X) dapat terjadi jika disimpan pada suhu 2-8 °C. Untuk melarutkan kristal, hangatkan 3M Wash Solution (20X) sampai suhu 30-35 °C dalam water bath atau inkubator sebelum menyiapkan Wash Solution (1X).

d. 3M Almond HRP Conjugate

Untuk mempersiapkan Almond HRP Conjugate 1X, tambahkan satu bagian 3M Almond HRP Conjugate (10X) dan encerkan dalam 9 bagian larutan Pengencer 1X. Persiapkan segera sebelum digunakan. Setiap 3M ELISA Well memerlukan 100 µl Almond HRP Conjugate 1X.

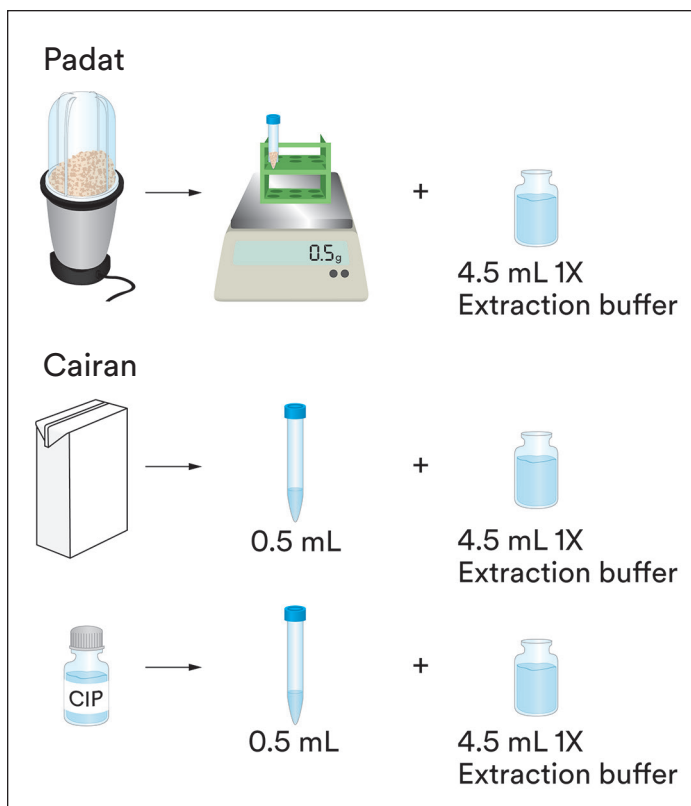
Persiapan sampel

Catatan: Seluruh sampel harus diekstraksi dengan Extraction Buffer 1X yang telah dihangatkan sampai suhu 50-60 °C.

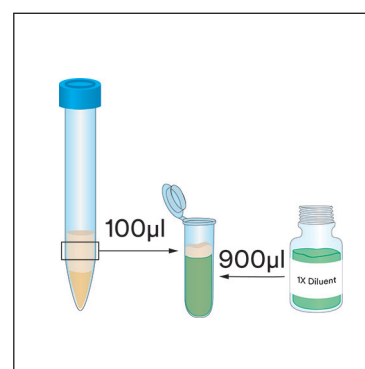
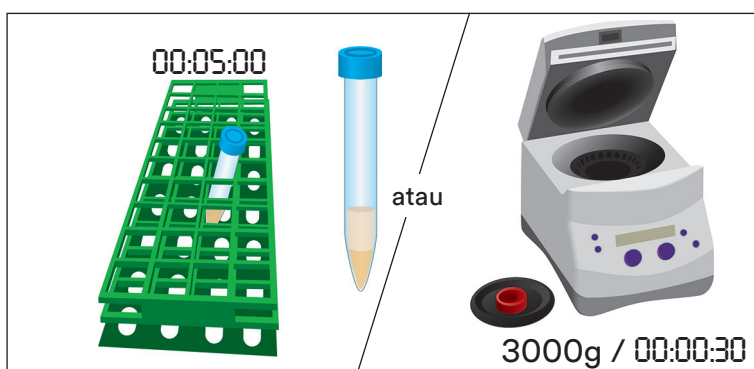
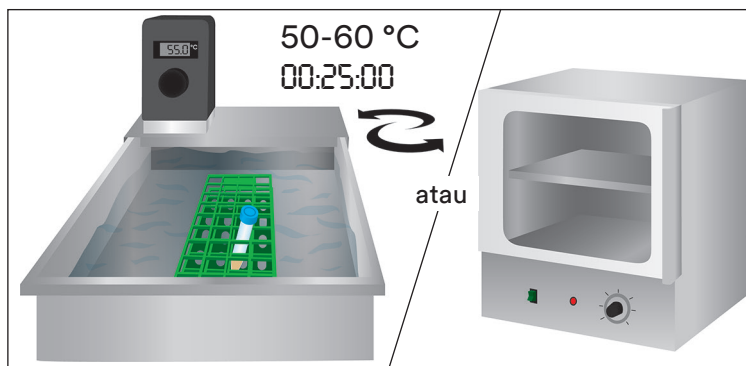
1.1 Siapkan sampel untuk ekstraksi protein dalam tabung reaksi bersih atau tabung sekali pakai, seperti yang dijelaskan pada Tabel 2.

Tabel 2. Persiapan sampel

| Matriks sampel | Ukuran sampel | Pengenceran (1/10) |
|--|---------------|---|
| Makanan padat | 0,5 ± 0,02 gr | Tambahkan 4,5 ± 0,09 ml Extraction Buffer 1X yang telah dihangatkan |
| Makanan cair | 0,5 ± 0,01 ml | Tambahkan 4,5 ± 0,09 ml Extraction Buffer 1X yang telah dihangatkan |
| Air Bilasan Akhir Clean-in-Place (CIP) | 0,5 ± 0,01 ml | Tambahkan 4,5 ± 0,09 ml Extraction 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 μ l dari lapisan tengah (berair) dan tambahkan pada 900 μ l Diluent Buffer (1X). Vorteks atau goyangkan untuk mencampur dengan rata (sesuai dengan pengenceran sampel asli 1/100.)

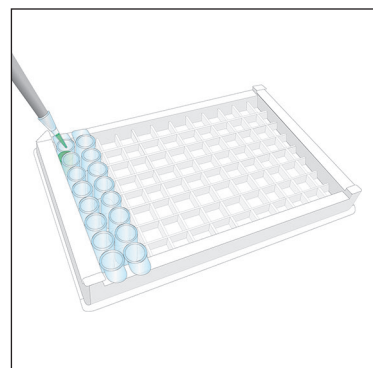
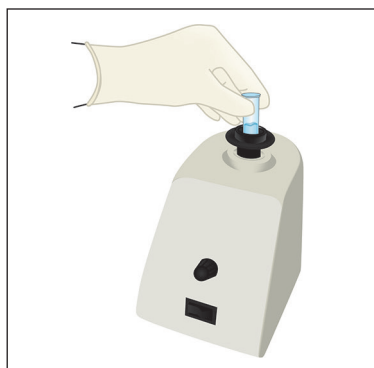
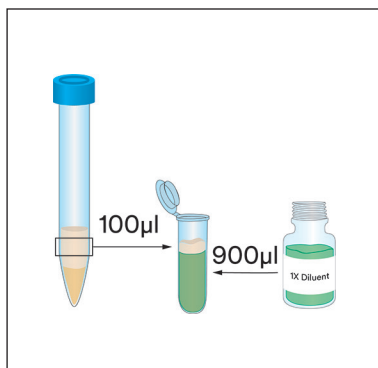


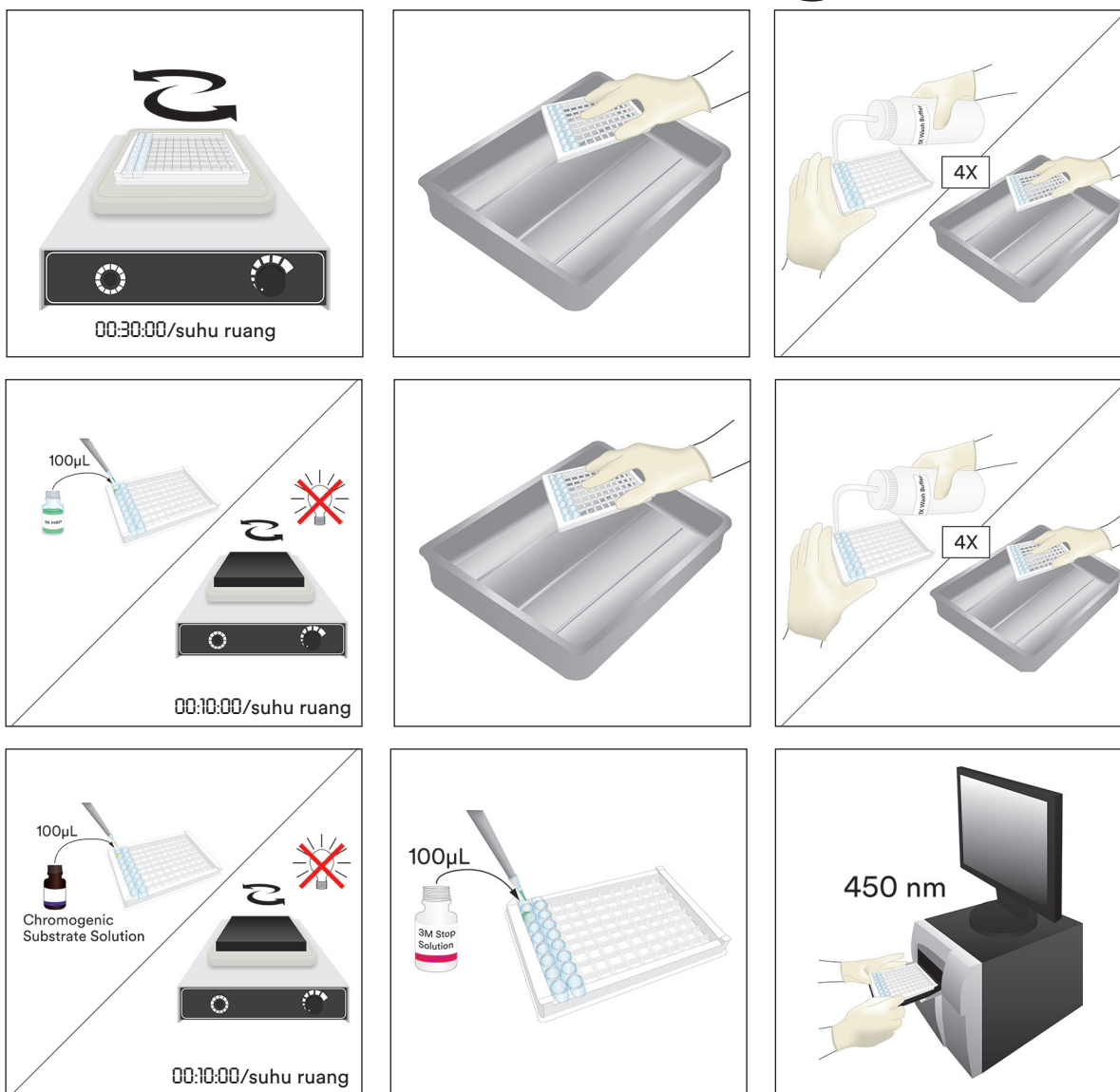
Prosedur ELISA

- 2.1 pindahkan satu 3M ELISA Well per sampel dan/atau standar dan tempatkan well di well holder. Kembalikan 3M ELISA Well yang tidak terpakai ke kantong foil, segel ulang, dan kembalikan ke penyimpanan pada suhu 2-8 °C.
- 2.2 Menggunakan 3M™ Almond Protein Standard Concentrate, siapkan set dengan empat standar yang dilarutkan dalam Diluent Buffer (1X).

| Nomor Standar | Konsentrasi Standar (ng/ml) | Volume standar ditambahkan pada Pengencer 1X | Volume larutan Diluent 1X |
|---------------|-----------------------------|--|---------------------------|
| 4 | 270 | 10 µl 3M Almond Protein Standard Concentrate | 990 µl |
| 3 | 90 | 200 µl dari nomor standar 4 | 400 µl |
| 2 | 30 | 200 µl dari nomor standar 3 | 400 µl |
| 1 | 10 | 200 µl dari nomor standar 2 | 400 µl |
| 0 | 0 | 0 | 400 µl |

- 2.3 Pindahkan dengan pipet 100 µl setiap standar ke dalam 3M ELISA Wells.
 - Standar 0 (Diluent Buffer 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 diekstraksi yang disiapkan dalam 1,4 ke dalam 3M ELISA Wells.
- 2.5 Inkubasi 3M ELISA Wells pada orbital shaker dengan kecepatan 400 rpm pada suhu kamar (20-25 °C) selama 30 ± 2 menit. Jaga agar semua wells tetap tertutup dan sejajar selama langkah ini untuk mencegah penguapan.
- 2.6 Setelah inkubasi, sedot isi ELISA Wells 3M.
- 2.7 Isi sepenuhnya masing-masing 3M ELISA Well dengan Wash Solution 1X dan sedot. Jika pencucian dilakukan manual, balikkan pelat dan tuang/guncangkan isinya ke dalam limbah wadah dan pukuk-pukuk wells 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 Almond HRP Konjugat 1X ke masing-masing 3M ELISA Well. 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 Wash Solution (1X).
- 2.10 Pindahkan dengan pipet 100 µl 3M Chromogenic Substrate Solution (Chromogenic Substrate Solution (TMB)) ke masing-masing 3M ELISA Well.
- 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 3M Stop Solution pada masing-masing 3M ELISA Well 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 $200 \text{ ng/ml} \times 100 = 20.000 \text{ ng/ml (ppb)}$ yaitu 20 µg/ml (ppm).

Karakteristik Kinerja Minimum

- a. Batas Deteksi (Limit of Detection (LOD)) adalah 1,9 ng/ml (ppb)

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi alergen terendah dalam sampel uji yang bisa dibedakan dari sampel kosong nyata pada tingkat probabilitas tertentu³. 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 Detection (LOQ)) adalah 1 ppm

Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai tingkat terendah alergen dalam sampel uji yang bisa dihitung secara wajar pada tingkat presisi tertentu³.

Presisi

| | | |
|---------------------|---------------------|------|
| Presisi Intra-assay | Rata-rata %CV = <10 | N=12 |
| Presisi Inter-assay | Rata-rata %CV = <10 | N=12 |

Spesifisitas dan Reaktivitas silang

Pengujian ini mengenali protein almond dan telah diuji reaktivitas silangnya terhadap berbagai sampel (Tabel 3.)

Tabel 3. Reaktivitas silang ELISA Kit Protein Almond 3M.

| Sampel matriks | % Reaktivitas silang |
|-----------------------|----------------------|
| Tepung almond | (+) |
| Susu Almond | (+) |
| BLG | <1% |
| Kasein Sapi | <1% |
| Susu Sapi | <1% |
| Kacang Brasil | <1% |
| Tepung Soba | <1% |
| Mete | <1% |
| Seledri | <1% |
| Kacang Arab | <1% |
| Tepung kelapa | <1% |
| Santan | <1% |
| Tepung jagung | <1% |
| Parvalbumin Ikan | <1% |
| Hazelnut | <1% |
| Kacang Lima | <1% |
| Macadamia | <1% |
| Biji Sawi | <1% |
| Ovomucoid | <1% |
| Ekstrak Polong | <1% |
| Tepung kacang tanah | <1% |
| Pikan | <1% |
| Kacang Pinus | <1% |
| Tepung kacang pistasi | <1% |
| Biji Labu | <1% |
| Scallop | <1% |
| Biji Wijen | <1% |
| Udang | <1% |
| Tepung sorghum | <1% |
| Tepung kedelai | <1% |
| Susu Kedelai | <1% |
| Biji Bunga Matahari | <1% |
| Kenari | <1% |



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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5

تعليمات المُنتج

3M™ طقم اليزا اللوز

الفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) للتحليل الكمي لبروتينات اللوز.

وصف المُنتج وغرض الاستخدام

طقم 3M™ بروتين اللوز اليزا مُعدّ للكشف عن بروتينات اللوز في مياه الشطف النهائي الخاصة بالتنظيف في المكان وعينات المسحات البيئية والمكونات الغذائية والمنتجات الغذائية المصنعة.

ويستخدم طقم 3M™ بروتين اللوز اليزا شطيرية اليزا للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم. وتتفاعل بروتينات اللوز الموجودة في العينة مع الأجسام المضادة لمضادات اللوز التي امتصت على سطح أنابيب المعيار ميكرويتير البوليسترين. وبعد إزالة البروتينات الحرة عن طريق الغسيل، تُضاف الأجسام المضادة لمضادات اللوز المصاحبة لبيروكسيد الفجل (HRP). وتُشكل هذه الأجسام المضادة المرتبطة بالإنزيم مركبات مع بروتين اللوز المرتبط سابقاً. وبعد خطوة الغسيل الثانية، يُكشف عن الإنزيم المرتبط بالفحص المناعي عن طريق إضافة الطبقة التحتية الصبغية تيترااميثيلبنزيندين، 5,5',3,3'- (TMB). يتنوع تطور اللون من هذا التفاعل الإنزيمي مباشرة مع تركيز بروتين اللوز في العينة المُختبرة؛ وبالتالي، فإن الامتصاصية، عند 450 نانومتر، هي مقياس لتركيز بروتين اللوز في عينة الاختبار. ويمكن استنباط كمية بروتين اللوز في عينة الاختبار من المنحنى القياسي، وتشكيلها من معايير التركيز المعروف، وتعديلها للنظر في تخفيف العينة.

إن طقم 3M™ بروتين اللوز اليزا مُعدّ للاستخدام في بيئة المختبر على أيدي مهنيين مدربين على أساليب العمل في المختبرات. ولم تُسجل شركة 3M استخدام هذا المُنتج في صناعات أخرى غير المواد الغذائية أو المشروبات. فعلى سبيل المثال، لم تُسجل شركة 3M هذا المنتج لاختبار العينات الصيدلانية أو السريرية أو البيطرية أو عينات مستحضرات التجميل. ولم يُقيم استخدام طقم 3M™ بروتين اللوز اليزا مع جميع المنتجات الغذائية المُمكنة وعمليات صناعة الأغذية وبروتوكولات الاختبار.

ويحتوي طقم 3M™ بروتين اللوز اليزا على 96 أنبوب، موضحة في الجدول 1.

الجدول 1. مكونات الطقم

| العنصر | التعريف | الإعدادات (انظر قسم إعداد الكاشف للحصول على التفاصيل) | التخزين | الثبات |
|---|---|--|--|--|
| أنابيب طقم 3M™ بروتين اللوز اليزا | كيس معدني واحد به لوح يحتوي على 96 أنبوب قابل للإزالة ومُغطى بالأجسام المضادة. | جاهز للاستخدام. | 2-8°C داخل كيس معدني مُغلق به عامل مُجفف. | أعد غلق الكيس المعدني المُحتوي على أنابيب غير مستخدمة وعامل تجفيف. ويُخزن في درجة حرارة 2-8°C للحفاظ على الثبات حتى تاريخ انتهاء صلاحية الطقم. |
| 3M™ مترافق اللوز لبيروكسيد الفجل تركيز (10X) | قارورة واحدة بها 1.5 مليلتر من الأجسام المضادة تركيز (10X) المصاحبة لبيروكسيد الفجل (10X). | يُخفف بنسبة 1/10 مباشرة قبل استخدامه للحصول على محلول عمل تركيزه 1X. | 2-8°C في الظلام. | يظل المترافق 10X ثابتاً حتى تاريخ انتهاء صلاحية الطقم. |
| 3M™ بروتين الكونسينترات القياسي لبروتين اللوز | قارورة واحدة بها تركيز معروف من بروتين اللوز. | راجع قسم إجراءات الفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) لإعداد قياسي. | 2-8°C. لا يُجفد. | يظل 3M بروتين الكونسينترات القياسي لبروتين اللوز ثابتاً حتى تاريخ انتهاء صلاحية الطقم. |

| | | | | |
|--|--|---|---|---|
| 3M™ عامل التخفيف (5X) | زجاجة واحدة بها 50 مليلترًا من عامل التخفيف تركيزه 5X. | تخفيف بنسبة 1/5 مباشرة قبل استخدامه للحصول على محلول عمل تركيزه 1X. | 2-8°C | يظل 3M عامل التخفيف المُنظَّم ذو التركيز (5X) ثابتًا حتى تاريخ انتهاء صلاحية الطقم. |
| 3M™ محلول الغسيل بتركيز (20X) | زجاجة واحدة بها 50 مليلترًا من محلول الغسيل بتركيز 20X. | تخفيف بنسبة 1/20 للحصول على محلول عمل تركيزه 1X. | 2-8°C لكل من محلول العمل ذي التركيز 1X ومحلول الغسيل ذي التركيز 20X. | يظل 3M 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. |
| 3M™ عامل الاستخلاص المُنظَّم بتركيز E26 (4X) | زجاجة واحدة بها 120 مليلترًا من عامل الاستخلاص المُنظَّم بتركيز (4X). | تخفيف بنسبة 1/4 للحصول على محلول عمل تركيزه 1X. يجب تسخين محلول العمل إلى درجة حرارة 50-60°C قبل الاستخدام. | 2-8°C لكل من محلول العمل ذي التركيز 1X و 3M عامل الاستخلاص المُنظَّم بتركيز (4X). | يظل عامل الاستخلاص المُنظَّم ذو التركيز 1X و 3M عامل الاستخلاص المُنظَّم ذو التركيز (4X) ثابتين حتى تاريخ انتهاء صلاحية الطقم. |
| 3M™ محلول الطبقة التحتية الصبغية | زجاجة واحدة بها 12 مليلترًا من محلول الطبقة التحتية الصبغية تيترا ميثيل بنزين ، 3,3',5,5'-TMB. | جاهز للاستخدام. | 2-8°C في الظلام. | يُحفظ بعيدًا عن الضوء. يظل 3M محلول الطبقة التحتية الصبغية ثابتًا حتى تاريخ انتهاء صلاحية الطقم. |
| 3M™ محلول التوقف | زجاجة واحدة بها 12 مليلترًا من 0.3 مولر حمض كبريتيك. | جاهز للاستخدام. | 2-8°C | يظل 3M محلول التوقف ثابتًا حتى تاريخ انتهاء صلاحية الطقم. |

المواد غير المتوفرة في الطقم:

- ماصات دقة ورؤوس ماصة لجمع من 10 إلى 100 ميكرو لتر
- أنابيب اختبار
- مُنظف/شفاف لوح المعيار المَكْرُوي
- ماء مُقَطَّر أو منزوع الأيونات
- قارئ لوح المعيار المَكْرُوي
- مجموعة متنوعة من معدات المعمل لتحضير الكواشف ومحاليل العوامل المُنظَّمة
- مؤقَّت
- مُقلَب
- حمام مائي هزاز أو حَضَّان هزاز
- جهاز هزاز دوراني

السلامة

يجب على المُستخدم قراءة وفهم واتِّباع جميع إرشادات السلامة الواردة في تعليمات طقم 3M بروتين اللوز اليزا وينبغي الاحتفاظ بإرشادات السلامة للرجوع إليها في المستقبل.

⚠ تحذير: يشير إلى حالة خطرة قد تؤدي، في حالة عدم تجنبها، إلى الوفاة أو التعرض لإصابات خطيرة و/أو حدوث تلف في الممتلكات.

⚠ إنذار: يشير إلى حالة يُحتمل أن تكون خطرة وقد تؤدي، في حالة عدم تجنبها، إلى حدوث تلف في الممتلكات.

⚠ تحذير

لحد من المخاطر المرتبطة بالتعرُّض للمواد الكيميائية:

- التخلص من المواد الكيميائية وفقًا للمعايير واللوائح المحلية والإقليمية والوطنية والصناعية الحالية.
- ينبغي أن يُدرَّب المُستخدم موظفيه على تقنيات الاختبار الصحيح الحالية، مثل الممارسات المعملية الجيدة¹ أو معايير الأيزو² 17025.

- اتباع الدائم لممارسات السلامة المعملية القياسية؛ والتي تشمل ارتداء الملابس الواقية المناسبة وحماية العين أثناء التعامل مع الكواشف.
- تجنّب ملامسة الجلد لـ 3M محلّول التوقف، انظر ورقة بيانات السلامة لمعرفة المزيد حول معلومات السلامة.
- **للد من المخاطر المرتبطة بالنتائج السلبية الخاطئة التي تؤدي إلى إصدار مُنتج مُلوّث:**
- تخزين طقم 3M بروتين اللوز اليزا كما هو موضح على الغلبة وفي تعليمات المنتج.
- استخدام طقم 3M بروتين اللوز اليزا مع العينات الغذائية والبيئية التي تم التحقق من صحتها داخليًا أو بواسطة طرف ثالث.
- اتباع البروتوكول وإجراء الاختبارات بالضبط كما هو موضح في تعليمات المنتج.
- لم تُسجّل شركة 3M استخدام طقم اليزا لبروتين اللوز في صناعات أخرى غير المواد الغذائية أو المشروبات. فعلى سبيل المثال، لم تُسجّل شركة 3M هذا المنتج لاختبار العينات الصيدلانية أو السريرية أو البيطرية أو عينات مستحضرات التجميل.
- **للد من المخاطر المرتبطة بالنتائج غير الدقيقة التي تؤدي إلى إصدار مُنتج مُلوّث:**
- استخدام طقم 3M بروتين اللوز اليزا دوماً قبل انتهاء الصلاحية.
- إعداد محاليل العمل دائماً باستخدام الكواشف المُركّزة لطقم 3M بروتين اللوز اليزا عند 20-25°C.
- عدم تجميد 3M بروتين الكونسنترات القياسي لبروتين اللوز.
- عدم استخدام محلّول الطبقة التحتية الصبغية إذا تحوّل لونه إلى اللون الأزرق. اتباع الممارسات المعملية الجيدة¹ لتجنّب التلوّث الخلطي من 3M محلّول الطبقة التحتية الصبغية.

إنذار

للد من المخاطر المرتبطة بالنتائج غير الدقيقة:

- لم يُقيّم ثبات العينة بعد عمليات الاستخراج. يجب القيام بإجراءات مقايسة الممتاز المناعي المرتبط بالإنزيم بعد استخراج العينة مباشرةً.
- الالتزام بمعايير 3M بروتين اللوز بعد اتباع الممارسات المعملية الجيدة¹ لمنع التلوّث الخلطي بين العينات.
- راجع ورقة بيانات السلامة للاطلاع على معلومات إضافية.
- للحصول على معلومات حول مستندات أداء المنتجات، يُرجى زيارة موقعنا الإلكتروني على العنوان www.3M.com/foodsafety أو اتصل بممثل أو موزع شركة 3M المحلي لديك.

مسؤولية المُستخدم

- يتحمل المستخدمون مسؤولية الاطلاع بأنفسهم على التعليمات والبيانات الخاصة بالمنتج. يُرجى زيارة موقعنا الإلكتروني على www.3m.com/foodsafety، أو الاتصال بالممثل أو الموزع المحلي الخاص بشركة 3M لديكم للحصول على مزيد من المعلومات.
- **وكما هو الحال بالنسبة لجميع طرق 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 المستخدم مسؤولية تحديد أي طريقة اختبار أو منتج لتقييم العدد الكافي من العينات الملائمة للمستخدم في سبيل تلبية طريقة الاختبار المختارة لمتطلبات المستخدم.
- كما يتحمل المستخدم أيضاً مسؤولية تحديد ما إذا كانت جميع طرق ونتائج الاختبار تُلبي متطلبات العملاء والموردين.
- وكما هو الحال بالنسبة لأي طريقة اختبار، لا تشكّل النتائج المحصّلة من استخدام أي منتج خاص بسلامة الأغذية لشركة 3M ضماناً 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 3M 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 3M Food Safety، فإن 3M أو أحد موزعيها المعتمدين، وحسب اختيارها، ستقوم بإعادة أو رد مبلغ الشراء المدفوع مقابل الحصول على المنتج. هذه هي التعويضات القانونية الحصرية المتاحة لك. يجب عليك فوراً إخطار 3M خلال ستين يوماً من اكتشاف أي عيوب مظلونة في المنتج وإعادته إلى 3M. الرجاء الاتصال بخدمة العملاء (على رقم 1-800-328-1671 في الولايات المتحدة) أو ممثل 3M Food Safety المحلي للحصول على تفويض بإرجاع البضائع.

حدود مسؤولية 3M

- لا تتحمل 3M 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 3M بأي حال من الأحوال أي التزام بموجب أي نظرية قانونية يتجاوز سعر الشراء المدفوع مقابل الحصول على المنتج المدعى بأنه معيب.

التخزين والتخلّص من المنتج

- تُخزّن محتويات طقم 3M بروتين اللوز اليزا في 2-8°C. لا يُجمّد. تُخزّن محاليل العمل المُخفّفة كما هو موضح في الجدول 1.

لا ينبغي استخدام محتويات طقم 3M™ بروتين اللوز اليزا بعد تاريخ انتهاء الصلاحية. يُسجّل تاريخ انتهاء الصلاحية ورقم الدفعة على الملصق الخارجي للصندوق.
التخلص من المواد الكيميائية وفقاً للمعايير واللوائح المحلية والإقليمية والوطنية والصناعية الحالية.

إرشادات الاستخدام

أتبع كل الإرشادات بعناية، فقد تحصل على نتائج غير دقيقة إذا أخفقت في الالتزام بها.

إعداد الكواشف

ضبط جميع الكواشف على درجة حرارة الأجواء المحيطة (20-25°C) قبل الاستخدام. استخدام أدوات معملية نظيفة لتخفيف وتخزين محاليل العمل.

أ. 3M عامل الاستخلاص المُنظّم

لتحضير 3M عامل الاستخلاص المُنظّم بتركيز (1X)، أضف جزءًا واحدًا من 3M عامل الاستخلاص المُنظّم ذي التركيز (4X) وخففه في ثلاثة أجزاء من الماء المُقطّر أو منزوع الأيونات. تسخين عامل الاستخلاص ذي التركيز (1X) مسبقًا إلى 50-60°C في حمام مائي أو حضان هزاز قبل الاستخدام. تتطلب كل عينة 4.5 ميليلترات من عامل الاستخلاص المُنظّم ذي التركيز 1X.

ب. 3M المحلول المُخفّف

لتحضير المحلول المُخفّف بتركيز 1X، أضف جزءًا واحدًا من 3M عامل التخفيف ذي التركيز (5X) وخففه في أربعة أجزاء من الماء المُقطّر أو منزوع الأيونات. تتطلب كل عينة كمية إجمالية قدرها 4.5 ميليلتر من المحلول المُخفّف ذي التركيز 1X.

ج. 3M محلول الغسيل

لتحضير محلول الغسيل بتركيز 1X، أضف جزءًا واحدًا من 3M محلول الغسيل ذي التركيز (20X) وخففه في 19 جزءًا من الماء المُقطّر أو منزوع الأيونات. يتطلب كل أنبوب من 3M للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم 2.5 ميليلتر تقريبًا من محلول الغسيل ذي التركيز 1X.

ملاحظة: قد يحدث تشكّل البلورات في 3M محلول الغسيل ذي التركيز (20X) عند تخزينه في درجة حرارة 2 - 8°C. ولتفكيك البلورات، يُسخّن 3M محلول الغسيل ذي التركيز (20X) إلى 30-35°C في حمام مائي أو حضان قبل تحضير محلول الغسيل ذي التركيز (1X).

د. 3M مترافق اللوز لبيروكسيد الفجل

لتحضير مترافق اللوز لبيروكسيد الفجل بتركيز 1X، أضف جزءًا واحدًا من 3M مترافق اللوز لبيروكسيد الفجل ذي التركيز (10X) وخففه في 9 أجزاء من محلول الغسيل ذي التركيز (1X). يُعدّ قبل الاستخدام مباشرة. يتطلب كل أنبوب من 3M للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) 100 ميكرو لتر من مترافق اللوز لبيروكسيد الفجل ذي التركيز 1X.

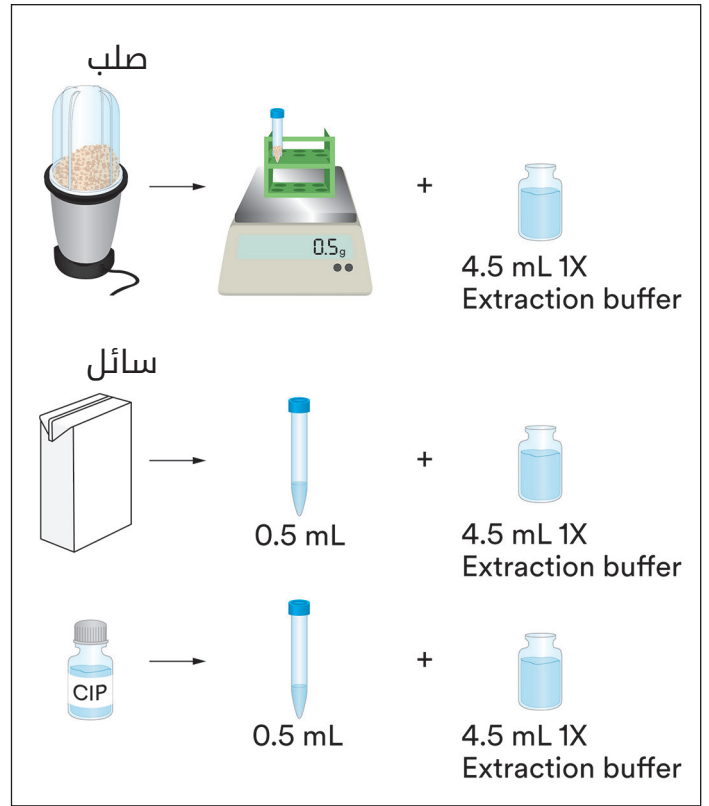
تحضير العينة

ملاحظة: ينبغي استخراج جميع العينات باستخدام عامل استخلاص مُنظّم بتركيز 1X تم تسخينه مسبقًا إلى 50-60°C.

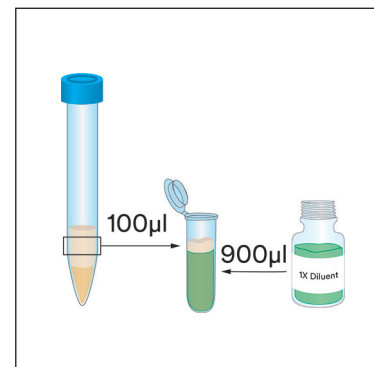
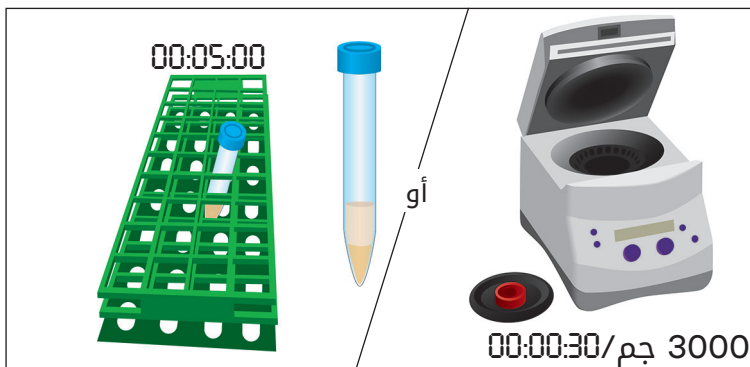
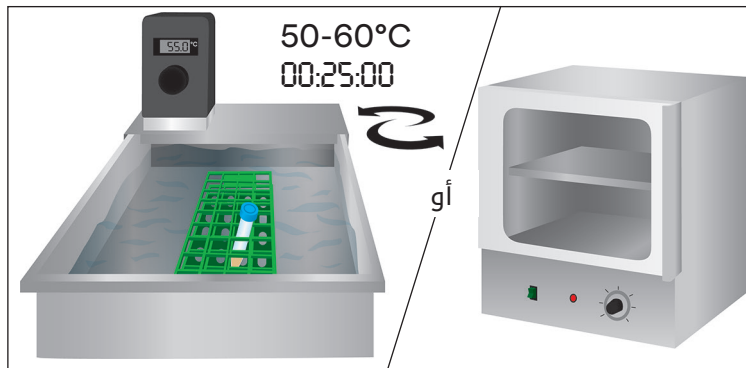
1.1 تُحضّر العينة لاستخراج البروتين في أنبوب اختبار نظيف أو أنبوب غير قابل لإعادة الاستعمال كما هو موضّح في الجدول 2.

الجدول 2. تحضير العينة

| العينة الأم | حجم العينة | التخفيف (1/10) |
|--|--------------------|---|
| أغذية صلبة | 0.02 ± 0.5 جم | أضف 4.5 ± 0.09 ميليلتر من عامل الاستخلاص المُنظّم ذي التركيز 1X الذي سُخّن مسبقًا |
| أغذية سائلة | 0.01 ± 0.5 ميليلتر | أضف 4.5 ± 0.09 ميليلتر من عامل الاستخلاص المُنظّم ذي التركيز 1X الذي سُخّن مسبقًا |
| مياه الشطف النهائي الخاصة بالتنظيف في المكان | 0.01 ± 0.5 ميليلتر | أضف 4.5 ± 0.09 ميليلتر من عامل الاستخلاص المُنظّم ذي التركيز 1X الذي سُخّن مسبقًا |



- 2.1 تخزين العينات المُخَفَّفة في حمام مائي هزاز أو حضان هزاز في درجة حرارة 50-60°C لمدة 25 ± 1 دقيقة. وهناك خيار آخر بترك العينات في حمام مائي أو حضان في درجة حرارة 50-60°C وهزّها يدويًا لمدة 1 دقيقة كل 5 دقائق.
- 3.1 بعد التخزين، توضع العينات في جهاز طرد مركزي يعمل بسرعة دوران 5000 - 7000 دورة في الدقيقة (3000 g x) لمدة 20 إلى 30 ثانية لتكوين الجسيمات أو السماح لها بالاستقرار لمدة 5 دقائق في حامل أنابيب الاختبار.
- 4.1 جمع 100 ميكرو لتر من الطبقة (المائية) الوسطى وإضافته إلى 900 ميكرو لتر من عامل التخفيف المُنظَّم ذي التركيز (1X). تحريك 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 إزالة أنبوب واحد من أنابيب 3M للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) لكل عينة و/أو معيار ووضع الأنابيب في الحامل. إعادة أنابيب 3M للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) غير المُستخدمة إلى الكيس المعدني وإعادة غلقه وتخزينه في درجة حرارة 2-8°C.

2.2 باستخدام 3MTM بروتين الكونسينترات القياسي لبروتين اللوز، أعد مجموعة من أربعة معايير مُخففة في عامل التخفيف المُنظَّم ذي التركيز (1X).

| رقم المعيار | تركيز المعيار (نانوجرام / مليلتر) | حجم المعيار المُضاف إلى عامل التخفيف ذي التركيز (1X) | حجم المحلول المُخفَّف ذي التركيز 1X |
|-------------|-----------------------------------|---|-------------------------------------|
| 4 | 270 | 10 ميكرو لتر من 3M بروتين الكونسينترات القياسي لبروتين اللوز. | 990 ميكرو لتر |
| 3 | 90 | 200 ميكرو لتر من المعيار رقم 4 | 400 ميكرو لتر |
| 2 | 30 | 200 ميكرو لتر من المعيار رقم 3 | 400 ميكرو لتر |
| 1 | 10 | 200 ميكرو لتر من المعيار رقم 2 | 400 ميكرو لتر |
| 0 | 0 | 0 | 400 ميكرو لتر |

3.2 ماضة سعة 100 ميكرو لتر من كل معيار في أنابيب 3M مقايصة الممتاز المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا).

- المعيار 0 (عامل التخفيف المُنظَّم 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 ماضة سعة 100 ميكرو لتر من العينة المُستخرجة والمُحضرة في 4.1 داخل إحدى أنابيب 3M مقايصة الممتاز المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا).

5.2 تحضين أنابيب 3M للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) في جهاز الهزاز الدوراني المضبوط على سرعة دوران 400 دورة في الدقيقة ودرجة حرارة مُحيطَة مقدارها (20-25°C) لمدة 30 ± 2 دقيقة. الحفاظ على تغطية الأنابيب واستوائها خلال هذه الخطوة لمنع التبخر.

6.2 بعد التحضين، تُسحب محتويات أنابيب 3M للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا).

7.2 املاً كل أنبوب من أنابيب 3M للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) بشكل كامل بمحلول الغسيل ذي التركيز 1X ثم اسحبها. إذا تمت عملية الغسيل يدوياً، فاعكس اللوح واسكب أو هز المحتويات للخارج في حاوية نفايات واطرق الأنابيب بشدة على ورقة ماضة لإزالة محلول الغسيل المتبقي. كرر هذه الخطوة ثلاث مرات في أربع عمليات غسيل إجمالاً.

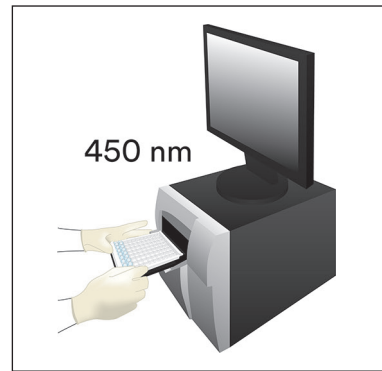
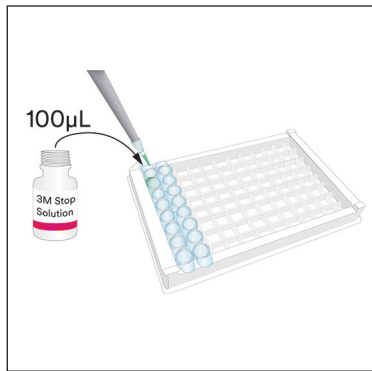
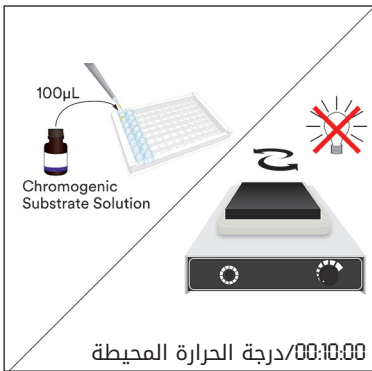
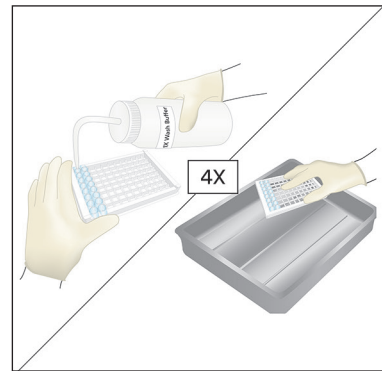
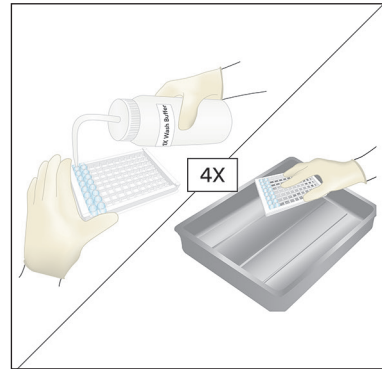
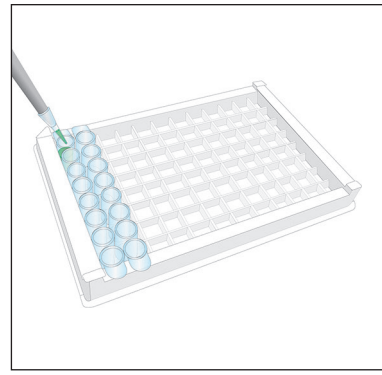
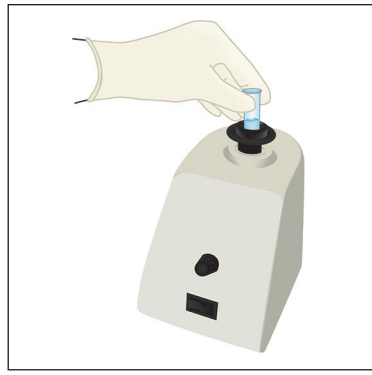
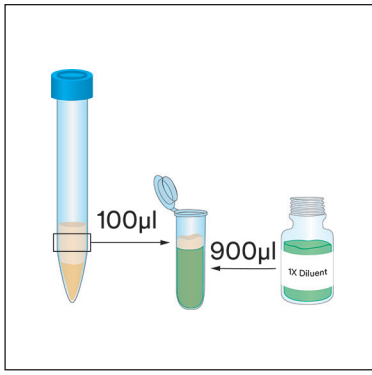
8.2 ماضة سعة 100 ميكرو لتر من مترافق اللوز لبيروكسيد الفجل بتركيز 1X في كل أنبوب من أنابيب 3M للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا). التحضين في جهاز الهزاز الدوراني المضبوط على سرعة دوران 400 دورة في الدقيقة ودرجة الحرارة المُحيطَة لمدة 10 ± 2 دقيقة. الحفاظ على تغطية اللوح ووضعه في الظلام واستوائه خلال هذه الخطوة.

9.2 كرر الخطوات 6.2 و 7.2 لإكمال ما مجموعه أربع عمليات غسيل باستخدام محلول غسيل بتركيز (1X).

10.2 ماضة سعة 100 ميكرو لتر من 3M محلول الطبقة التحتية الصبغية تيتراميثيلبنزيدين (TMB) في كل أنبوب من أنابيب 3M للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا).

11.2 التحضين في جهاز الهزاز الدوراني المضبوط على سرعة دوران 400 دورة في الدقيقة ودرجة الحرارة المُحيطَة لمدة 10 دقائق. الحفاظ على تغطية اللوح ووضعه في الظلام واستوائه خلال هذه الخطوة.

12.2 بعد التحضين، إضافة 100 ميكرو لتر من 3M محلول التوقف في كل أنبوب من أنابيب 3M للفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (اليزا) وتحديد الامتصاصية (في 450 نانومتر) خلال 30 دقيقة.



تحليل النتائج

1.3 أ طرح 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 لوغستي رباعي المتغيرات متوافق، أنشئ منحنى معياريًا برسم مُخطط للتركيز بالنانوجرام / ميليلتر (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 حساب تركيزات العينة من المنحنى المعياري؛ تُقَدَّر وحدة النتيجة بالنانوجرام / مليلتر (جزء في المليار). ثم الضرب 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 $\times 100 = 20,000$ نانوجرام / مليلتر (جزء في المليار) وهو 20 ميكروجرام / مليلتر (جزء في المليون).

خصائص الأداء الأدنى

أ. حد الكشف (LOD) هو 1.9 نانوجرام / مليلتر (جزء في المليار)

يُعرَّف حد الكشف بأنه أدنى تركيز لموَلَّد الحساسية في عينة اختبار يمكن تمييزها عن عينة حقيقية خالية عند مستوى احتمال مُحدَّد³. ويُحدَّد 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 لموَلَّد الحساسية في عينة اختبار يمكن قياسها بشكل صحيح عند مستوى معين من الدقة³.

الدقة

| | | |
|------|----------------|-------------------------------------|
| N=12 | متوسط CV% > 10 | الدقة في المقايسة في ذات الوقت |
| N=12 | متوسط CV% > 10 | الدقة في المقايسة بين أوقات متباعدة |

النوعية والتفاعلية المُتصَلِبة

تتعرف هذه المقايسة على بروتين اللوز وأجري اختبارها مع عينات متنوعة بشأن التفاعلية المُتصَلِبة (الجدول 3).

الجدول 3. التفاعلية المُتصَلِبة لطقم 3MTM بروتين اللوز اليزا .

| العينة الأم | % التفاعلية المُتصَلِبة |
|---------------------|-------------------------|
| دقيق اللوز | (+) |
| حليب اللوز | (+) |
| بيتا لاکتوجلوبيولين | > 1% |
| الكازين البقري | > 1% |
| حليب بقري | > 1% |
| جوز برازيلي | > 1% |
| دقيق الحنطة السوداء | > 1% |
| كاجو | > 1% |
| كَرْفُس | > 1% |
| حمص | > 1% |
| دقيق جوز الهند | > 1% |
| حليب جوز الهند | > 1% |
| دقيق الذرة | > 1% |
| بارفالبومين السمك | > 1% |
| بندق | > 1% |
| فاصوليا ليما | > 1% |
| جوز المكاديميا | > 1% |
| بذور الخردل | > 1% |

| | |
|-----|----------------------|
| 1%> | مُخاطَاطِيّ التَّيْض |
| 1%> | مُستَخرَج البازلاء |
| 1%> | دقيق الفول السوداني |
| 1%> | جوز أمريكي |
| 1%> | صنوبر |
| 1%> | دقيق الفستق |
| 1%> | بذور القرع |
| 1%> | محار |
| 1%> | بذور السمسم |
| 1%> | جمبري |
| 1%> | دقيق السورغم |
| 1%> | دقيق الصويا |
| 1%> | حليب الصويا |
| 1%> | بذور عباد الشمس |
| 1%> | عين الجمل |

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

www.3M.com/foodsafety/symbols

3M Food Safety

3M United States

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-800-328-6553

3M Canada

Post Office Box 5757
London, Ontario N6A 4T1
Canada
1-800-563-2921

3M Latin America

3M Center
Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1-954-340-8263

3M Europe and MEA

3M Deutschland GmbH
Carl-Schurz-Strasse 1
D41453 Neuss/Germany
+49-2131-14-3000

3M United Kingdom PLC

Morley Street,
Loughborough
Leicestershire
LE11 1EP
United Kingdom
+(44) 1509 611 611

3M Österreich GmbH

Euro Plaza
Gebäude J, A-1120 Wien
Kranichberggasse 4
Austria
+(43) 1 86 686-0

3M Asia Pacific

No 1, Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
65-64508869

3M Japan

3M Health Care Limited
6-7-29, Kita-Shinagawa
Shinagawa-ku, Tokyo
141-8684 Japan
81-570-011-321

3M Australia

Bldg A, 1 Rivett Road
North Ryde, NSW 2113
Australia
61 1300 363 878



3M Health Care

2510 Conway Ave
St. Paul, MN 55144 USA
www.3M.com/foodsafety

© 2018, 3M. All rights reserved.
3M is a trademark of 3M. Used under license in Canada.
34-8721-9056-5