

r-biopharm®



# RIDASCREEN®FAST Milk

酶联免疫法快速定量检测全奶蛋白

订货号: R4652



体外检测试剂

储存温度 2 - 8 °C

拜发分析系统销售（北京）有限公司

电话: +86 10 8458 3218 传真: +86 10 8458 0691

地址:

拜发分析系统销售（北京）有限公司  
北京市朝阳区阜通东大街 6 号方恒国际中心 A 座 1903  
邮编: 100102  
[www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)

欢迎随时联系德国拜发中国区:

电话:

客服中心: +86 10 8458 3218

传真/邮箱:

销售部: +86 10 - 84 58 32 18 - 223

[info@r-biopharm.cn](mailto:info@r-biopharm.cn)

市场部:

+86 10 - 84 58 32 18 - 217

[info@r-biopharm.cn](mailto:info@r-biopharm.cn)

**RIDA® 和 RIDASCREEN®**

均为 R-Biopharm 德国拜发公司的注册品牌标志

制造商: R-Biopharm AG, Darmstadt, 德国

R-Biopharm AG 拥有 ISO 9001 认证。

**RIDA® and RIDASCREEN®**

are registered trademarks of R-Biopharm AG

Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

## 产品简介

**RIDASCREEN®FAST Milk** (订货号: **R4652**) 快速全奶蛋白检测试剂盒, 采用夹心酶联免疫法, 定量检测食品中的全奶蛋白。

试剂盒中含有酶联免疫检测所需的所有试剂, 包括标准品。

试剂盒足够进行 **48** 次检测 (包括标准测定)。

定量分析需要使用微孔板酶标仪。

样品处理:	均质、提取和离心
检测时间:	样品制备 (以 10 个样品为例) ..... 约 45 分钟 检测过程 (孵育时间) ..... 30 分钟
标准品:	<b>RIDASCREEN®</b> 试剂盒使用的标准品已经使用国际认可的 <b>NIST RM 1549a</b> 全脂奶粉有证参考物质进行了校准。
检测限:	<b>0.7 mg/kg (ppm)</b> 全奶蛋白 (取决于不同样品基质)
定量限:	<b>2.5 mg/kg (ppm)</b> 全奶蛋白 相当于 <b>7.1 mg/kg</b> 脱脂奶粉
特异性:	试剂盒中使用的抗体可特异性识别牛奶中的酪蛋白和 $\beta$ -乳球蛋白。与绵羊奶、山羊奶和水牛奶有交叉反应。具体信息请参见德国拜发集团的产品验证报告。

试剂盒中所使用的抗体的交叉反应, 是针对纯食品 (例如玉米粉) 本身进行的检测。而针对加工的配方食品 (如玉米面包), 此处给出的交叉反应可能会有所不同。潜在的干扰物质 (如多酚) 会在进行样品的添加回收试验过程中通过结果分析出来 (参见说明书 **13. 方法局限性**)。

为了提升进行 **ELISA** 检测时的效果, 德国拜发集团建议您参考 **GEP (ELISA 良好操作规程)** 手册, 手册中为您详细介绍了如何正确使用和进行 **ELISA** 操作, 及在操作过程中需要注意的关键点等。GEP 手册可以登录

[www.r-biopharm.com/products/food-feed-analysis](http://www.r-biopharm.com/products/food-feed-analysis) 网站进行阅读或下载。

### 针对奶类过敏原检测的同类试剂盒:

**RIDASCREEN®FAST Casein** 快速酪蛋白检测试剂盒(订货号: **R4612**)

**RIDASCREEN®FAST  $\beta$ -Lactoglobulin** 快速  $\beta$ -乳球蛋白检测试剂盒(订货号: **R4912**)

**RIDASCREEN®  $\beta$ -Lactoglobulin  $\beta$ -乳球蛋白检测试剂盒** (订货号: **4901**)

## 1. 用途

RIDASCREEN®FAST Milk 快速全奶蛋白检测试剂盒, 采用夹心酶联免疫法, 定量检测可能含有奶或奶粉的食品中的奶蛋白。考虑到食品样品的多样性, 下列不同种类的食品样品已经使用本试剂盒进行检测验证, 包括饼干、婴幼儿食品、巧克力、冰淇淋和香肠。本试剂盒也适用于检测其他种类的食品, 建议使用者在检测前对样品的适用性进行确认或验证。

请参看德国拜发集团的产品验证报告了解产品的验证数据和技术详情。德国拜发集团的实验室持续地对不同种类样品进行验证并推出相应的样品处理方法说明(参见说明书 15. 其他样品处理方法), 可供全球客户参考使用。

## 2. 概要

食物过敏是指对花生或蛋等食物蛋白质的不良免疫反应。过敏是 IgE 介导的免疫系统故障。相比之下, 食物不耐受症, 如乳糖不耐受, 是由缺乏某些酶(= 代谢性疾病)引起的。抗体与疾病的发展无关。牛奶过敏与乳糖不耐受不同: 不耐受的症状是由某种类型的糖(乳糖)引起的, 但牛奶中的某些蛋白质会引起过敏。牛奶过敏是一种经典意义上的过敏, 即免疫系统对抗一种实际上对身体无害的物质, 并出现过敏症状。牛奶可以作为饮料或加工产品(如奶油、黄油、酸奶或奶酪)直接食用。牛奶粉通常被用于烘焙食品、酱汁和甜点的生产加工。

牛奶中含有约 3.2 % 的蛋白质, 其中的 10 % 为  $\beta$ -乳球蛋白(乳清中的主要蛋白), 80 % 为酪蛋白。酪蛋白是热稳定的, 而  $\beta$ -乳球蛋白是热敏感的。大多数牛奶过敏患者对牛奶中的两种蛋白质组分都过敏。 $\beta$ -乳球蛋白对所有过敏者, 尤其是儿童而言意义重大, 而随着此后的成长, 酪蛋白逐渐成为主要的过敏原。奶过敏原既可以作为成份之一也可以作为污染物而存在于未经加工的及经过加工的食品中。根据欧盟条例 (EU) 1169/2011, 食品标签上必须注明是否含有奶成份或奶制品。美国、加拿大、澳大利亚和新西兰等国家均有类似的法律法规。

奶中含有大约 3.2% 的奶蛋白。一个样品, 若其中含有 1 mg/kg 的奶蛋白, 也就相当于含有大约 31 mg/kg 的奶。

## 3. 检测原理

本试剂盒的检测原理是抗原抗体反应。微孔板包被有全奶蛋白酪蛋白和  $\beta$ -乳球蛋白的特异性抗体。加入标准品或样品溶液, 其中含有的全奶蛋白会和特异性抗体结合, 形成抗体-抗原复合物。没有结合的部分在洗涤步骤中被除去。然后加入酶标记的抗体(酶连接物)和抗体-抗原复合物结合, 形成抗体-抗原-抗体复合物(“三明治”夹心法)。没有结合的酶标记物在洗涤步骤中被出去。洗涤后在孔中加入底物/

发色剂并孵育，结合的酶连接物将发色剂转化为蓝色。加入反应终止液后颜色由蓝色转变为黄色。在450 nm 处测量，吸光度值与样品中的全奶蛋白浓度成正比。检测结果为 mg/kg 全奶蛋白。

#### 4. 试剂盒组份

每一个盒中的试剂足够进行48 个试验（包括标准测定），盒中的组份如下：

试剂盒中的组份	瓶盖颜色	试剂状态		含量
<b>Microtiter plate</b> 微孔板	-	即开即用型		48 孔
<b>3 x Extractor 2</b> 3 x 提取液 2	蓝色	浓缩液	<b>2x</b>	30 ml
<b>Allergen extraction buffer</b> 过敏原提取缓冲液	绿色	浓缩液	<b>10x</b>	100 ml
<b>Additive 1</b> 添加剂 1	蓝色			2 g
<b>Standard 1*</b> 标准品 1	无色透明	即开即用型	0 mg/kg*	1.3 ml
<b>Standard 2*</b> 标准品 2	无色透明	即开即用型	2.5 mg/kg*	1.3 ml
<b>Standard 3*</b> 标准品 3	无色透明	即开即用型	7.5 mg/kg*	1.3 ml
<b>Standard 4*</b> 标准品 4	无色透明	即开即用型	22.5 mg/kg*	1.3 ml
<b>Standard 5*</b> 标准品 5	无色透明	即开即用型	67.5 mg/kg*	1.3 ml
<b>Wash buffer</b> 洗涤缓冲液	棕色	浓缩液	<b>10x</b>	100 ml
<b>Conjugate</b> 酶标记物	红色	浓缩液	<b>11x</b>	0.7 ml
<b>Conjugate buffer</b> 酶标记物缓冲液	黑色	即开即用型		7 ml
<b>Substrate/Chromogen</b> 底物 / 发色剂	棕色	即开即用型		10 ml
<b>Stop Solution</b> 终止液	黄色	即开即用型		14 ml

\*) 给出的浓度已经考虑了根据说明书 9. 进行样品处理过程中产生的稀释倍数100。全奶蛋白浓度可直接从标准曲线中读出。

#### 5. 另需的试剂和设备

##### 5.1. 设备：

–实验室手套

- 天平（量程至少为 50 g，精度为  $\pm 0.01$  g）
- 搅拌棒、均质器、匀浆机
- 离心机（至少 2500 g），离心管（例如 Greiner 的 50 mL 离心管）
- 振荡器
- 水浴（60 °C 和 100 °C，请注意了解水浴锅的温度偏差情况）
- 槽状滤纸（孔径 8 - 12  $\mu\text{m}$ ）
- 移液管
- 量筒
- 可调式 20  $\mu\text{l}$  - 200  $\mu\text{l}$  和 200 - 1000  $\mu\text{l}$  微量移液器
- 选配：空白的微孔板、100  $\mu\text{l}$  的 8 道移液器
- 微孔板酶标仪（450 nm）
- 德国拜发专业分析软件 RIDASOFT® Win.NET (订货号：Z9996FF)

## 5.2. 试剂:

- 蒸馏水或去离子水
- 1 M HCl
- 1 M NaOH
- 选配：BSA 牛血清白蛋白（例如：Serva 的 Fraction V BSA，无蛋白酶，订货号：11926）

## 6. 操作者应该注意之事项

建议由经过相关培训的实验人员进行本试剂盒的使用操作。请严格按照说明书的要求使用本试剂盒。

试剂盒中可能含有对健康有害的物质。

请在德国拜发集团官方网站 [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com) 上获取 MSDS，了解关于本试剂盒内所含化学品的安全信息。

试剂盒中的微孔板孔（已包被的微孔板，及如说明书 10.2.中描述的选配的空白预混板），均不可重复使用。请在移取不同的标准品及样品时，均换用新的干净的移液头，避免交叉污染。

提取剂 2 中含有巯基乙醇。建议在通风橱里进行操作。请避免接触皮肤（请戴实验手套！）。

所有试剂和材料在使用后必须按照保护人类和环境的要求进行回收或独立处置。请遵守相应的国家法规（如《循环管理法》、《危险物质条例》等）。

## 7. 储存条件

保存试剂盒于 2 - 8 °C，不要冷冻。

请在回温到室温（20 - 25°C）后，再打开铝箔袋取出其中的微孔板，以避免在微孔板孔中形成冷凝水。

将不用的微孔板放进原锡箔袋中并且与提供的干燥剂一起重新密封储存于2 - 8°C条件下。

红色的底物/发色剂对光敏感，因此要避免直接暴露在光线下。

对过了有效期（见试剂盒外标签有效期）的试剂盒不再提供任何质量保证。

不能交叉使用不同批号的盒中试剂。

## 8. 试剂变质的迹象

-底物/发色剂在使用前颜色变蓝

-标准品 5 的吸光度值小于 1.2 ( $A_{450\text{ nm}} < 1.2$ )

## 9. 样品处理

进行操作和样品提取前，请先戴上实验室手套。空气中粉尘级别的过敏原及不干净的实验室器具均有可能导致检测污染。因此建议采取以下措施：

- 在处理完每个样品后均对耗材及操作台表面、玻璃器皿、均质器及其解除了的其他耗材进行彻底清洁。
- 样品处理和 ELISA 检测必须分在两个不同的实验室内进行

使用之前将所有试剂回温至室温（20 - 25 °C）。

过敏原提取缓冲液为 10 倍浓缩液。在稀释前在水浴锅中 37 °C 条件下充分溶解可能出现的结晶并混合。然后对加热后的浓缩液按比例 1:10（1+9）用蒸馏水稀释（例如：100 ml 缓冲液浓缩液 + 900 ml 蒸馏水）。稀释后的提取缓冲液 AEP 在 2 - 8 °C 条件下可保存约 12 周。实际测试数据显示，稀释后的提取缓冲液 AEP 可以在室温（20 - 25 °C）条件下无污染情况可保存约 4 周（AOAC 认证中使用的是冷藏保存条件）。

获取的样品提取液，若需要稀释，则须使用稀释后的提取缓冲液 AEP 来进行稀释。若需要稀释的样品提取液中含有松籽、葵花籽或南瓜籽，则必须使用额外添加了 BSA 的 AEP 进行稀释（含有 2.5% 的 BSA 的 BSA-AEP，例如 10 mL 稀释后的提取缓冲液 AEP + 0.25 g BSA）。

针对含有添加剂 1 的过敏原提取缓冲液（A-AEP）的配制，称取 1.35 克添加剂 1，置入玻璃烧杯中，加入 15 ml 1 M NaOH。搅拌直至添加剂 1 溶解。然后向量筒中加入 700 ml 稀释后的过敏原提取缓冲液 AEP（参见上文）。一边搅拌，一边加入 15 ml 添加剂 1 溶液。用量筒中的稀释后的过敏原提取缓冲液 AEP 润洗玻璃烧杯，使得其中的添加剂 1 完全被洗下和加入到量筒中。使用 1 M HCl，将含有添加剂 1 的过敏原提取缓冲液（A-AEP）的 pH 值校正至 9 后，使用稀释的过敏原提取缓冲液 AEP 定容到 750 ml。

750 ml A-AEP 缓冲液足够用于 45 个样品提取。该缓冲液可以在室温（20 - 25 °C）条件下使用和保存约 3 周（**不要在冰箱中冷藏!**）。请使用干净的容器盛装缓冲液，避免出现微生物生长。若缓冲液中出现了晶体，则不可再使用。请避免落灰和污染。

请确认，已经及时地将含有添加剂 1 的过敏原提取缓冲液（A-AEP）在 60 °C 水浴中预热（后续样品提取时需要用到 100 摄氏度水浴。）

试剂盒中的**提取液 2** 是 2 倍浓缩液，需要使用蒸馏水进行 1:2（1+1）的稀释（例如 30 ml 提取缓冲液 2 + 30 ml 蒸馏水）。稀释后的提取液 2 足够用于 15 个样品，可在室温（20 - 25 °C）条件下使用和保存约 3 个月。也可向德国拜发集团单独订购订货号为 R4613 的提取液 2。

以下文字中会使用下列简写名称：

- AEP: 稀释后的过敏原提取缓冲液
- A-AEP: 含有添加剂 1 的过敏原提取缓冲液

## 9.1. 样品提取

在样品提取前，请将含有添加剂 1 的过敏原提取缓冲液（A-AEP）在 60 °C 水浴中预热。

- 对具有代表性的足够量样品进行均质（彻底粉碎、碾磨、混匀）处理（例如 50 g 或 50 mL）
- 取 1 g（若液体样品则为 1 mL）均质后的样品，加入 4 ml 制备好的提取液 2（参见 9.），盖上试管，彻底混合均匀
- 在 100 °C 的水浴中加热 10 分钟（若出现结块的现象，则必须通过摇晃令其彻底溶解）
- 让样品在短时间内（1 - 2 分钟）冷却下来
- 向经过加热处理的样品中加入 16 mL（若样品为液体，则加入 15 mL）预热后（60 °C）的 A-AEP 缓冲液（参见 9.）
- 涡旋振荡或彻底混合
- 在 60 °C 水浴中进行加热提取 10 分钟
- 冷却（例如使用冰水）（3 - 5 分钟）
- 过滤，或 2500 g 离心 10 分钟（最好是 4 °C 离心）  
（或将 2 ml 提取液收集于一反应容器中，在微量离心机中高速 > 10000 g 离心 10 分钟）
- 若离心后的上清液中仍有小颗粒，则使用槽状滤纸对上层液体进行过滤。将过滤或离心后的清液，移至一个干净的试管中。
- 离心或过滤后的清液，可以在实验当天于密闭的试管中冷藏（2 - 8 °C）保存。  
不使用的清液，在不稀释的情况下，可以在 - 20 °C 条件下保存一个月。



- 使用提取液 2 进行了提取得到的样品提取液，在检测前，需要使用 AEP 进行稀释（参见 10.2.）。稀释后的样品提取液保质期很短，必须在 30 分钟内用于检测。
- 若在一次检测后发现，样品提取液还需要进行更大级数的进一步稀释（如样品的吸光度值 > 标准品 5 的吸光度值），则需要使用如下配置的缓冲液来进行进一步的稀释，以保证稀释后样品的溶剂成分比例与稀释前一致：

A-AEP	16 mL
提取液 2	2 mL
蒸馏水	2 mL

在对样品提取液，使用上述比例的溶剂进行了更大级数的稀释后，然后再是按照 10.2. 中的描述，在检测前，使用 AEP 进行稀释。

**注意：**

含有提取液 2 和 A-AEP 的样品提取液同时也可以直接用于 RIDASCREEN®FAST  $\beta$ -Lactoglobulin  $\beta$ -乳球蛋白检测试剂盒 (R4912) 及 RIDASCREEN®FAST Casein 酪蛋白检测试剂盒(R4612)的检测。

## 10. 检测步骤

### 10.1. 检测前的准备

使用之前将所有试剂回温至室温（20 - 25 °C）。

**酶连接物**（红色瓶盖瓶子）为11倍浓缩液。由于稀释的酶标记物的弱稳定性，所以只稀释实际需用量的酶连接物。在吸取浓缩液之前，要轻轻的振摇以便充分混均。用酶连接物稀释缓冲液以1:11（1+10）的比例稀释酶连接物浓缩液（例如：200  $\mu$ l 浓缩液 + 2.0 mL 酶连接物稀释缓冲液，足够2个微孔板条用）。

**洗涤缓冲液**为10倍浓缩液，在使用前浓缩液须按比例1:10（1+9）用蒸馏水稀释（例如：100 ml 缓冲液浓缩液 + 900 ml 蒸馏水）。在稀释前如果存在结晶，应在 37 °C 水浴锅中加热完全溶解。稀释后的洗涤缓冲液在 20 - 25 °C 条件下可保存约4周。

不使用的试剂，请立即放回 2 – 8 °C 保存。

### 10.2. 检测过程

使用提取液 2 和 A-AEP 进行了提取得到的样品提取液，在检测前，需要使用 AEP 进行 1:5（1+4）的稀释（参见 9. 样品处理），例如 400  $\mu$ l AEP + 100  $\mu$ l 样品提取液。

部分样品（例如玉米或玉米制品；含有松籽、葵花籽或南瓜籽的样品），在使用提取液 2 和 A-AEP 进行了提取后，可能会产生基质干扰效应。为了去除此类样品的基质干扰，可以将此类样品的样品提取液，在检测前，使用 BSA-AEP（参见 9.）进行 1:5 稀释（例如 400  $\mu$ l BSA-AEP + 100  $\mu$ l 样品提取液）。这里使用的 BSA-AEP，是指含有 2.5%BSA 的 AEP，例如 10 mL AEP + 0.25 g BSA。

稀释后的样品提取液需要立刻（在 30 分钟内）进行检测。若放置时间过长，则会直接影响样品检测的回收率和准确度。

仔细洗板非常重要。避免在操作过程中微孔出现干燥。

每次检测不应使用多于 3 条微孔板条（24 孔）。若检测时需要使用超过三条微孔板条，建议另外取用一块未包被的洁净的微孔板（例如 Greiner bio-one 的低偶联微孔板，货号 655101）作为预混板使用，以去除因为单孔加样而带来的孔与孔之间的反应时间差。即将所有的标准品和样品都先加入到预混板中（至少 150  $\mu$ l 每孔），然后使用八道移液器将预混板孔中的液体 100  $\mu$ l 快速准确地移加到试剂盒的反应板孔中。

建议使用多道移液器或自动分液器对酶标记物、底物和终止液进行取液加液，以最大程度地避免孔间加液时间差。

1. 将足够标准品和样品检测所需数量的孔条插入微孔板架，记录下标准品和样品的位置。
2. 将 100  $\mu$ l 标准品及按照说明书 9. 处理好并按照说明书 10.2. 稀释好的样品溶液双平行地加到相应的微孔中，在室温条件下（20 -25 °C）孵育 10 分钟。
3. 倒出孔中的液体，将微孔板架倒置在吸水纸上拍打（每轮拍打 3 次）以保证完全除去孔中的液体。每孔加入 250  $\mu$ l 稀释后的洗涤缓冲液（参见 10.1.）洗涤微孔。上述操作重复进行两遍。
4. 向每一个微孔中加入 100  $\mu$ l 稀释后的酶连接物溶液（参见 10.1），小心混匀，在室温条件下（20 - 25 °C）继续孵育 10 分钟。
5. 倒出孔中的液体，将微孔板架倒置在吸水纸上拍打（每轮拍打 3 次）以保证完全除去孔中的液体。每孔加入 250  $\mu$ l 稀释后的洗涤缓冲液（参见 10.1.）洗涤微孔。上述操作重复进行两遍。
6. 向每一个微孔中加入 100  $\mu$ l 红色底物/发色剂，充分混合后在室温（20 -25 °C）条件下暗处孵育 10 分钟。
7. 向每一个微孔中加入 100  $\mu$ l 反应终止液，充分混合。在加入反应终止液后 10 分钟<sup>1</sup>内于 450 nm 处测量吸光度值。

<sup>1</sup> 实际数据显示，在加入终止液后 30 分钟内读数，结果均为稳定可靠的。但 AOAC 认证中使用的是 10 分钟内读数。

## 11. 结果分析

请使用 R-Biopharm 德国拜发集团专门为 RIDASCREEN® 系列产品设计的应用软件 RIDASOFT® Win（订货号：Z9996FF）来进行结果分析。使用 4 参数功能或 Cubic spline 功能进行结果评估。选择评估曲线类型后，就请固定使用该类型，而不要频繁更改。由于建立曲线的数学公式的不同，选择 Cubic spline 功能时，超出曲线范围的值（< 标准品 2，及 > 标准品 5）无法被直接读出和赋值。选择 4 参数功能，则可以直接读出在标准品 1 和标准品 2 之间的结果赋值（参见 13. 方法局限性）。进行样品的结果评估前，请确认该次检测的数据结果尤其是标准曲线，是符合基本评估要求的。关于标准曲线请参看试剂盒中附带的质保证书。

本试剂盒也可以使用单孔检测。良好的单孔检测操作，不会影响试剂盒的性能。但若使用单孔检测，请在 RIDASOFT® Win 软件中正确选择单点检测设置。不建议将单孔检测的方法设立为常规检测方法。建议实验室按照自身情况，对若使用单孔检测时可能存在的风险进行风险管理分析。友情提示，单孔检测的方法不符合 EN 15633-1 和 EN 15842 标准的要求。在单孔检测的情况下，检测过程中出现错误（例如移液错误）但被忽视的可能性是会大大增加的。此外，单孔检测也可能会导致检测结果出现更大的偏差。

若按照本说明书中描述的方法进行样品处理，则样品的稀释倍数为 100。试剂盒的标准曲线中已经内置了 100 的稀释倍数（参见 4.），因此可以直接从标准曲线读出样品中全奶蛋白的浓度。

## 12. 结果评估

检测结果表现为每 kg 食品样品中含有多少 mg 的全奶蛋白，即检测结果为奶蛋白的浓度。

若检测结果在检测限 LOD 和定量限 LOQ 之间，则表示在被测样品中存在较低浓度的奶蛋白。在检测限和定量限之间的检测值，相对偏差会比较大，因此不建议将这个浓度范围的检测值作为定量的结果来表述，而是检测表述为“< 定量限”的形式。

检测结果低于检测限 LOD 意味着，样品中所含有的目标过敏原的浓度在本试剂盒的检测限以下，同时不排除样品中可能含有目标过敏原的部分蛋白成分（如脂）。请在检测报告上正确表述此类结果的含义。

若样品的吸光度值（A450 nm）> 标准品 5 的吸光度值，则需要将样品进一步稀释后再次检测。若进行进一步稀释，则在结果计算是必须将额外产生的稀释倍数计算进去。

若检测结果与试剂盒中附带的质保证书相比较吸光度值（A450 nm）过高，特别是零标准品的吸光度值过高，则可能是洗涤不彻底或存在全奶蛋白污染。

## 13. 方法局限性

样品基质、检测操作过程和实验室环境，都有可能直接影响到检测结果。

不同的样品基质、样品的加工程度及样品提取的有效性，都有可能直接影响检测限和定量限。

超出检测范围也就意味着超出了本方法的技术性能限，因此可能会出现较大的结果偏差。因此，尤其是那些正好位于本方法技术性能限制节点浓度（如位于检测限浓度、定量限浓度、检测范围上限浓度点）的样品，可能出现节点周围（或检查范围内、或检测范围外）的波动。

样品的称量不准确，直接影响到检测结果的不准确（例如，称量时 10%的偏差，就将直接导致检测浓度 10%的偏差）。若要得到准确的检测结果，那么请确保称量的偏差保持在±1%以内。

关于各类不同食品基质样品的检测性能情况，请参见德国拜发的当期验证报告。德国拜发集团的验证报告中也给出了实验室间比对的结果以及国际环形试验结果。

德国拜发集团对单个的、有种类代表性的食品样品进行了验证，但无法保证覆盖所有种类的食品。建议在检测未经验证的食品样品种类时，同时对人工添加已知浓度过敏原的该食品基质进行检测，以辅助判断检测的有效性和准确性。同时建议对有需要的样品基质进行验证。

食品的基质多种多样，因此无法完全保证检测彻底不受样品基质的干扰。基质干扰可能导致假阳性或过高的检测结果，也可能抑制反应从而导致过低的检测结果。基质干扰一般与试剂盒中所使用的抗体的特异性无关，可以通过对样品进行人工添加的方法来进行确证。

在样品提取或检测的过程中引入外来蛋白（例如 **BSA** 或者鱼胶原蛋白），可以在某种程度上抑制基质干扰。

在说明书 10.2. 中建议加入 **BSA**，仅仅适用于，当确实存在基质干扰效应的时候。并不仅仅是限于在 10.2.中提到的松籽等样品有必要加入 **BSA**，而是所有确实存在基质干扰效应的样品都应该加入 **BSA** 处理。

交叉反应是试剂盒所用的抗体与有与目标抗原类似的抗原结合位点的抗原发生反应而导致的。这种情况常常出现在针对相类似相关联的种类的抗原上。交叉反应与基质干扰不同，它是与抗体抗原的特异性反应直接相关的。抗原结构受到与实际分析物类似的影响（例如通过加热、干燥等）。在某些情况下，食品的加工过程可能会引发或灭失交叉反应。

在检测是否有针对某些食品的交叉反应是，会使用有代表性的这些食品来进行检测。相同大类的不同种食品可能出现略有差异的交叉反应结果。德国拜发集团的验证报告中明确给出了已经经过检测验证的交叉反应情况。

在加工（加热、烘干）食品的过程中，蛋白质可能会出现变性等变化，以及/或者变成片段，从而导致针对此类样品基质的交叉反应结果出现改变。

## 提醒:

实际食品生产中使用的乳类原料包括不同的“乳类”，如奶粉，乳清（ $\beta$ -乳球蛋白），酪蛋白酸等。RIDASCREEN®FAST Milk 快速全奶蛋白检测试剂盒是按照全脂奶粉校准的。因此，如果被检测的食品样品中含有：

- 脱脂奶粉、全脂奶粉或奶，则本试剂盒的 ELISA 检测结果为定量结果
- 乳清（ $\beta$ -乳球蛋白），则本试剂盒的 ELISA 检测结果可能比实际值偏小
- 酪蛋白酸，则本试剂盒的 ELISA 检测结果可能比实际值偏小

若希望得到酪蛋白和/或  $\beta$ -乳球蛋白的定量检测结果，请使用 RIDASCREEN®FAST Casein 快速酪蛋白检测试剂盒(R4612)和/或 RIDASCREEN®FAST  $\beta$ -Lactoglobulin 快速  $\beta$ -乳球蛋白检测试剂盒(R4912) 进行检测。

若检测结果显示低于检测限，不排除其他的奶类成份（例如糖比如乳糖）存在于该样品中的可能性。

## 14. 建议

为了获得更好的检测效果：

- 遵照 EN 15633-1 和 EN 15842 标准的要求进行检测（例如每个样品均应该进行双平行检测）
- 在移取标准品或样品提取液前，将移液头进行润洗
- 检测样品的同时进行质控样品的检测，以确定检测的效果和正确性。使用不含全奶蛋白的阴性样品和人工添加全奶蛋白的阳性样品作为质控样品进行检测。德国拜发的验证报告中给出了进行样品人工添加的示例。
- 过酸或过碱性样品，必须在进行样品提取前，将 pH 值调整至中性（6.5 至 7.5 之间）
- 夹心法 ELISA 检测蛋白质片段的能力极其有限，因此如果要检测蛋白质片段，请使用竞争法 ELISA 试剂盒，即 RIDASCREEN®  $\beta$ -Lactoglobulin  $\beta$ -乳球蛋白检测试剂盒(订货号：R4901)。
- 若需要配合全自动工作站例如 ChemWell®、ThunderBolt®、GEMINI 进行全自动检测操作，请联系德国拜发 R-Biopharm 集团 info@r-biopharm.de 了解详情

## 15. 其他样品处理方法

- 针对强吸水性的样品，使用 RIDA® Extraktor 2 (订货号：R4613) 提取液 2 来进行提取
- 含有松籽、葵花籽或南瓜籽的样品提取方法

– RIDASCREEN®FAST 过敏原检测试剂盒系列 – 拭子法定性检测生产线或设备表面上的过敏原


欢迎联系德国拜发 **R-Biopharm** 集团了解更多产品和检测方法的相关信息!

## 图标解释


- 通用图标:

 参照产品说明书


 批号


 保质期 (年-月)

 贮存温度

 订货号

 检测样品量

 生产日期 (年-月)

 生产商 + 地址

## 声明

用户承担使用产品和服务的全部风险。R-Biopharm AG 将保证其产品和服务符合 R-Biopharm AG 设定的所有质量控制标准，并且 R-Biopharm AG 可以选择更换或维修在以下方面存在缺陷的任何组件，产品或重复服务：产品特定保修期内或有效期之内的工艺或材料，并且经核查应披露其本身具有的缺陷。该保证明确替代关于质量，描述，对任何特定目的的适用性，适销性，生产率或任何其他事项的所有其他明示或暗示的保证。R-Biopharm AG 对产品的正确使用不承担任何责任，并因此不承担法律或其他方式产生的所有其他明示或暗示的补救，保证，担保或责任，或与使用任何产品或服务有关的直接或间接损害，并且对任何利润损失概不负责。除非通过 R-Biopharm AG 授权代表签署的书面文书，否则本担保不可以扩展，更改或更改。