



RIDASCREEN® SET Total

Art. Nr.: R4106

Dosaggio immunoenzimatico per l'analisi combinata delle enterotossine stafilococciche (A – E) negli alimenti

Metodo di Screening Ufficiale Europeo

Test in vitro

Conservare a 2 - 8 °C

Prodotto da:

R-Biopharm AG
An der neuen Bergstraße 17
D-64297 Darmstadt
www.r-biopharm.de

Per informazioni:

Telefono:

Centralino (0 61 51) 81 02-0

Telefax / E-Mail:

Ordini (0 61 51) 81 02-20
orders@r-biopharm.de

Marketing

(0 61 51) 81 02-40
info@r-biopharm.de

Distribuito da:

R-Biopharm Italia Srl
Via Morandi 10
20077 Melegnano MI
Telefono 02 9823 3330
info@r-biopharm.it - www.r-biopharm.com

RIDA® e RIDASCREEN®
sono marchi registrati della R-Biopharm AG
Produttore: R-BIOPHARM AG, Darmstadt, Germania
R-BIOPHARM AG è certificata ISO 9001.

RIDASCREEN® SET Total

Introduzione

RIDASCREEN® SET Total (Art. No.: R4106) è un saggio immunoenzimatico per la determinazione combinata delle enterotossine A, B, C, D ed E di *Staphylococcus aureus* negli alimenti liquidi e solidi e nelle colture batteriche. Tutti i reagenti richiesti per il dosaggio immunoenzimatico sono contenuti nel kit.

Il kit è sufficiente per 48 determinazioni.

Preparazione campioni:	estrazione secondo il metodo semplificato per la lavorazione dei campioni (parzialmente applicabile, vedi paragrafo 9 “Preparazione dei campioni”) mediante omogeneizzazione con tampone e preparazione del campione
	estrazione secondo il metodo ufficiale europeo per la preparazione dei campioni (metodo della concentrazione tramite dialisi, paragrafo 9.5)
Tempo richiesto:	preparazione campioni (per 10 campioni) ca. 1 h (procedura semplificata)
	preparazione campioni (per 10 campioni) ... ca. 19 h (metodo ufficiale, dialisi overnight)
	esecuzione test (tempo d’incubazione) 2 h 45 min
Limite di rilevabilità:	
Procedura semplificata	campioni liquidi0.25 ng/ml di tossina campioni solidi 0.375 ng/g di tossina surnatanti da colture batteriche.0.25 ng/ml di tossina
Concentrazione con dialisi	campioni liquidi0.05 ng/ml di tossina campioni solidi 0.05 ng/g di tossina

La specificità del test RIDASCREEN® SET Total è stata determinata analizzando le reattività incrociate alle sostanze corrispondenti nel sistema tampone. Nei campioni, la specificità può discostarsi da quelle determinate nel sistema tampone a causa degli effetti della matrice. Prima dell'analisi delle sostanze reattive incrociate, l'utente deve determinare il limite di rilevabilità e il recupero per la sostanza nella rispettiva matrice campione. Il test non può discriminare tra analiti e sostanze reattive incrociate.

Al fine di aumentare la qualità delle prestazioni durante l'esecuzione di procedure ELISA, si prega di far riferimento al nostro Good ELISA Practice (GEP) – Manuale nella versione aggiornata. Qui si elencano gli standard minimi riguardanti le condizioni di lavoro quando si utilizzano i kit di R-Biopharm AG e si eseguono test ELISA. Il manuale può essere visionato, stampato e scaricato direttamente dal nostro sito <http://www.rbiopharm.com/products/food-feed-analysis>

Prodotti correlati

RIDASCREEN® SET Total (R4105; 96 determinazioni)

RIDASCREEN® SET A,B,C,D,E (R4101)

1. Scopo

RIDASCREEN® SET Total è un dosaggio immunoenzimatico a sandwich per l'analisi combinata delle enterotossine di *Staphylococcus aureus* (SET) A, B, C, D ed E negli alimenti liquidi e solidi e nelle colture batteriche.

2. Generale

I principali agenti eziologici delle intossicazioni, accanto alle Salmonelle, sono le enterotossine di *Staphylococcus aureus*. Tra i ceppi di *Staphylococcus aureus* vi sono altre specie di stafilococchi, come *S. hyicus* e *S. intermedius*, in grado di produrre una o più proteine termostabili che si comportano come le enterotossine. Generalmente si ritiene che per produrre un'intossicazione sia necessaria una popolazione di 5×10^5 cellule di ceppi di *Staphylococcus aureus* in grado di produrre le enterotossine per grammo di alimento. Tuttavia, altri studi hanno dimostrato che bastano 100-200 ng di enterotossine stafilococciche per determinare i sintomi di un'intossicazione alimentare. Le intossicazioni da SET sono associate frequentemente al consumo di pasta, prodotti a base di carne, prosciutto, torte salate, prodotti a base di carne di pollo, pesce e prodotti ittici, latte e suoi derivati, gelati, ovoprodotti, insalate, prodotti di pasticceria e ripieni per dolci, e alimenti prodotti con questi. Particolarmente significative sono le enterotossine dei serogruppi A, B, C, D ed E.

3. Principio del test

RIDASCREEN® SET Total è un test affidabile per la rilevazione delle tossine principali (A, B, C, D ed E) di *S. aureus*. La superficie della micropiastra è rivestita con anticorpi specifici che possono legare le enterotossine contenute nel campione. I componenti del campione non legati dagli anticorpi vengono eliminati con un lavaggio. Aggiungendo gli anticorpi specifici diretti contro le tossine e le molecole rivelatrici marcate con un enzima si ottiene la formazione del complesso sandwich anticorpo-antigene-anticorpo. Dopo aver aggiunto nei pozzetti la soluzione substrato/cromogeno, l'enzima coniugato converte il cromogeno in un prodotto blu. Questo viraggio del colore indica la presenza delle enterotossine nel campione. I risultati possono essere letti visivamente o fotometricamente. Dopo l'aggiunta della soluzione di stop che porta al viraggio del colore dal blu al giallo si può eseguire la misurazione con un lettore per micropiastre.

4. Reagenti forniti

Ogni kit contiene materiale sufficiente per 48 analisi (inclusi i controlli positivi e quelli negativi).

COMPONENTE	COLORE TAPPO	FORMATO		VOLUME
Micropiastra	-	pronta all'uso		48 pozzetti
Controllo positivo	rosso	pronto all'uso	Colore rosso	1 ml
Controllo negativo	bianco	pronto all'uso	Incolore	1 ml
Tampone di lavaggio	marrone	Concentrato	10 x	100 ml
Coniugato 1	rosso	pronto all'uso	Colore verde	6 ml
Coniugato 2	nero	pronto all'uso	Colore blu	6 ml
Substrato/Cromogeno	marrone	pronto all'uso	Colore rosso	13 ml
Soluzione di Stop	giallo	pronto all'uso		14 ml

5. Materiale richiesto ma non fornito

5.1. Attrezzatura:

- bilancia analitica e contenitori per pesare
- miscelatore o equivalente, per l'omogeneizzazione del campione. Per il siero di latte in polvere e tutti i tipi di alimenti difficili da miscelare, si raccomanda l'uso di un Turrax per avere un campione omogeneo.
- provette da 50 ml
- filtri a cartuccia sterili (opzionali)
- micropipette da 100 µl
- incubatori a 35-37°C
- pipette multicanale o lavatore per micropiastre
- spettrofotometro per micropiastre (450/620 nm) – opzionale

Ulteriore attrezzatura necessaria per la preparazione dei campioni secondo il metodo ufficiale europeo (EOSM) Versione 5, Settembre 2010:

Nota generale: si consiglia vivamente di utilizzare solo consumabili da laboratorio in vetro o polipropilene (ad esempio provette, imbuti, beakers, vial), per evitare l'assorbimento delle tossine

- Agitatore per beakers (temperature ambiente)
- Centrifuga, da 3130 a 10 000 g, refrigerabile a 4°C, provette da centrifuga
- Membrane per dialisi, MWCO: 6 – 8 kD, larghezza: 23 ± 2 mm (es. Spectra/Por[®]1, ref: 132 650, Spectrum)
- Fermagli di chiusura, larghezza di tenuta=35 mm (e.g. Spectra/Por[®], ref: 132736, Spectrum)
- pH-metro
- Provette da 50 ml
- Imbuto
- Lana di vetro
- Vaschetta contenitore
- Frigorifero (5°C ± 3 °C) e freezer (≤ -18 °C)
- Vortex
- Spettrofotometro per micropiastre (450/620 nm)

5.2. Reagenti:

- tampone PBS a pH 7.4 (0.55 g NaH₂PO₄ x H₂O + 2.85 g Na₂HPO₄ x 2H₂O + 8.7 g NaCl, portare a 1000 ml con acqua distillata)
- acqua distillata oppure osmotizzata (facoltativo: acqua sterile)
- n-eptano (per campioni con elevato contenuto di grassi)
- Brain-Heart-Infusion (BHI) per il pre-arricchimento dei ceppi di stafilococco potenzialmente formanti tossine. Chiedete al vostro distributore locale di terreni di coltura per la fornitura di BHI

Reagenti aggiuntivi per EOSM:

- Acido cloridrico (5N e 1N)
- Idrossido di sodio (5N e 1N)
- Glicole polietilenico 20 000 (PEG), qualità per sintesi

6. Avvertenze e precauzioni per gli utilizzatori

Il kit RIDASCREEN® SET Total deve essere utilizzato soltanto da personale di laboratorio qualificato. Le istruzioni per l'uso devono essere attentamente seguite.

Questo kit può contenere sostanze pericolose. Per le note di pericolo sulle sostanze contenute si prega di fare riferimento alle schede di sicurezza dei materiali (MSDS) appropriate per questo prodotto, disponibili online all'indirizzo <http://www.r-biopharm.com>.

7. Conservazione

Conservare il kit a 2-8°C (35-46°F). **Non congelare alcun componente del kit.**

Riporre i pozzetti non utilizzati nella loro custodia originale insieme al dissecante in dotazione e conservare a 2-8°C (35-46°F).

La soluzione substrato/cromogeno di colore rosso è fotosensibile: evitarne l'esposizione alla luce diretta.

La garanzia di qualità non è valida oltre la data di scadenza riportata in etichetta.

Il kit può essere utilizzato regolarmente almeno fino alla data di scadenza (indicata sulla confezione del kit), se conservato correttamente.

Non scambiare singoli reagenti appartenenti a kit con numero di lotto differente.

8. Indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

- qualsiasi colorazione bluastra della soluzione substrato/cromogeno prima dell'esecuzione del test
- valori inferiori a unità di assorbanza ($A_{450/620\text{nm}} < 1.0$) per il controllo positivo o ≥ 0.2 ($A_{450/620\text{nm}} \geq 0.2$) per il controllo negativo

9. Preparazione dei campioni

Conservare i campioni $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ fino all'estrazione. I campioni devono essere completamente scongelati prima della fase di estrazione.

Importante: Per una buona precipitazione dei solidi e per la completa separazione delle fasi durante la centrifugazione, è necessario talvolta aumentare la velocità e/o la durata di centrifugazione.

Le proteine alimentari possono interagire con le tossine o con gli anticorpi del kit. In caso di interazione si può influenzare notevolmente la rilevazione delle tossine. Pertanto si raccomanda vivamente di preparare i campioni alimentari secondo il „metodo ufficiale dei laboratori di riferimento europei per stafilococchi coagulasi-positivi“(s.9.5.).

I metodi semplificati per la lavorazione dei campioni descritti dal paragrafo 9.1 al 9.3, non sono adatti per l'estrazione di SET da matrici difficili (ad esempio, pesce, cioccolato, verdura / sottaceti acidificati). Per questi alimenti si possono infatti ottenere valori di recupero particolarmente bassi nonché legami aspecifici delle proteine presenti nel campione con gli anticorpi del kit.

Su richiesta, è possibile rivedere un elenco con i valori di recupero per SET relativi ad una vasta gamma di campioni alimentari.

9.1. Protocollo semplificato per il latte

- centrifugare i campioni di latte (10 - 25 ml), specialmente i campioni di latte crudo, a freddo: 10 min / 3500 g / 10 °C (50 °F)
(se non si dispone di una centrifuga raffreddata occorre raffreddare preventivamente i campioni)
- asportare lo strato superiore cremoso assorbendolo generosamente
- nel saggio utilizzare 100 µl di campione preparato per ogni pozzetto

9.2. Protocollo semplificato per pasta e riso (cotti), carne, gelati, alimenti trasformati e altri alimenti con un contenuto di grassi inferiore al 40%

- sminuzzare 10-25 g di campione e omogeneizzarli con 1.5 ml di tampone PBS a pH 7.4 per g di campione (es. 10 g di campione + 15 ml di tampone)
- agitare per 15 minuti
- centrifugare: 10 minuti / 3500 g / 10°C (50°F)
- se necessario asportare lo strato di grasso superiore
- nel saggio utilizzare 100 µl di campione preparato per ogni pozzetto

9.3. Protocollo semplificato per alimenti con un contenuto lipidico superiore al 40%

- sminuzzare 10-25 g di campione e omogeneizzarli con 1.5 ml di tampone PBS a pH 7.4 per g di campione (es. 10 g di campione + 15 ml di tampone)
- agitare per 15 minuti
- centrifugare: 10 minuti / 3500 g / 10°C (50°F)
- trasferire il surnatante in un'altra provetta da centrifuga, aggiungere un uguale volume di n-eptano e miscelare bene per 5 minuti
- centrifugare: 5 minuti / 3500 g / 10 °C (50°F)
- asportare completamente lo strato superiore di eptano per evitare di trasferire residui di eptano nei pozzetti
- nel saggio utilizzare per ogni pozzetto 100 µl della fase inferiore acquosa così ottenuta

9.4. Colture batteriche

I ceppi di *S. aureus* (quali ad esempio *S. hyicus* o *S. intermedius*) che possono potenzialmente formare tossine, devono essere pre-arricchiti in Brain-Heart-Infusion (BHI) al fine di garantire la formazione ottimale delle enterotossine.

Nota importante: Prima dell'analisi, assicurarsi che tutti i ceppi da testare siano presenti in colture pure

- centrifugare i surnatanti di colture microbiologiche fluide per 5 minuti ad almeno 3500 g e a 10°C (50°F)
- si raccomanda di filtrare sterilmente il surnatante perché le cellule non precipitate o risospese possono influenzare la reazione del test
- nel saggio utilizzare 100 µl di filtrato per ogni pozzetto

Nota: Se i valori di OD misurati sono fuori dall'intervallo di linearità (circa 3.0, in base alle istruzioni del produttore) il surnatante delle colture filtrate deve essere ulteriormente diluito con tampone PBS e analizzato nuovamente.

Il surnatante di colture cellulari libere deve essere conservato a -20 ° C (-4 ° F). Una volta scongelati, i surnatanti devono essere analizzati al più presto con il kit RIDASCREEN® SET Total e non può essere ricongelato.

9.5 Preparazione del campione secondo il metodo di screening ufficiale europeo, Versione 5, Settembre 2010

9.5.1 Fasi di preparazione prima dell'estrazione delle tossine

Dal momento che le enterotossine stafilococciche possono essere distribuite nel campione in modo non omogeneo, miscelare accuratamente l'intero campione, se possibile, oppure una parte rappresentativa di esso con un miscelatore.

Pesare 25 g +/- 0.1 g di campione miscelato e trasferire questa parte da analizzare in un beaker.

NOTA 1: In caso di formaggio con crosta, prendere circa il 10% di crosta per il 90% di formaggio.

NOTA 2: Nel caso di campioni in polvere, ricostituire il campione pesando 12.5 g di campione e 12.5 g di acqua distillata o secondo le istruzioni del produttore (esempio; latte in polvere al 10%).

NOTA 3: Nel caso di una sospetta intossicazione alimentare da stafilococco (SPFO), la quantità minima di campione da utilizzare per eseguire l'analisi è pari a 12.5 g.

9.5.2 Procedura di estrazione

Aggiungere 40 ml di acqua tiepida distillata o osmotizzata ($38\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$) all'aliquota da analizzare e omogeneizzare la miscela utilizzando un Turrax, un frullatore o stomacher. Sciacquare lo strumento con acqua distillata.

NOTA 1: In caso di campioni liquidi, non aggiungere 40 ml di acqua distillata.

Lasciare che la tossina diffonda agitando il campione a temperatura ambiente per almeno 30 min.

Fase di acidificazione: Acidificare la miscela con qualche goccia di acido cloridrico per ottenere un **pH compreso tra 3.5 e 4.0**.

*NOTA 2: Durante l'acidificazione del campione, per mantenere le enterotossine in buono stato, prestare particolare attenzione a i) utilizzare il pH-metro e ii) mantenere il **pH compreso tra 3.5 e 4.0** prima della centrifugazione.*

Fare attenzione a non avere un pH a $<3,0$ utilizzando acido cloridrico. Se il pH diventa $<3,0$, prendere altri 25 g di miscela e procedere come descritto al paragrafo 9.5.1.

Centrifugare la miscela ad almeno $3130 \times g$ per 15 min a **4°C o a temperatura ambiente**. Trasferire il surnatante in un becher.

NOTA 3: Non esitate a risciacquare con acqua distillata ad ogni passaggio per recuperare il massimo di tossina.

NOTA 4: Se il surnatante non è abbastanza chiaro, centrifugare di nuovo come descritto sopra.

*NOTA 5: Il pH del surnatante dopo la prima centrifugazione deve essere $<4,5$. In caso contrario, acidificare fino ad ottenere un **pH compreso tra 3.5 e 4.0** e centrifugare nuovamente come descritto sopra.*

Fase di neutralizzazione: Neutralizzare la miscela con idrossido di sodio per ottenere un **pH compreso tra 7.4 e 7.6**. Centrifugare come descritto sopra. Recuperare l'intera fase acquosa neutralizzata.

*NOTA 6: Durante la neutralizzazione del campione, per mantenere le enterotossine in buono stato, prestare particolare attenzione a i) utilizzare il pH-metro e ii) mantenere il **pH compreso tra 7.4 e 7.6** dopo la neutralizzazione*

Fare attenzione a non avere un pH superiore a 9.0. Se il pH diventa > 9.0, prendere altri 25 g di miscela e procedere come descritto al paragrafo 9.5.1.

9.5.3. Fase di concentrazione tramite dialisi

Per ciascun campione:

- Preparare una soluzione PEG al 30% (W/v) (30 g PEG/ 100 ml di acqua distillata).
- Tagliare circa 50-60 cm di membrana per dialisi
- Mettere a bagno la membrana in acqua distillata seguendo le istruzioni del produttore (a temperatura ambiente per almeno 30 minuti).
- Sciacquare la membrana con acqua distillata (fuori e dentro).
- Bloccare un'estremità della membrana con un fermaglio, riempire con la fase acquosa neutralizzata come descritto al paragrafo 9.5.2 utilizzando un imbuto e un piccolo pezzo di di lana di vetro per eliminare le particelle in sospensione. Bloccare l'altra estremità della membrana con un secondo fermaglio.

NOTA 1: Se il campione da analizzare contiene elevate quantità di sale o zucchero, eseguire una dialisi sotto agitazione con 2 L di acqua distillata, due volte in un'ora.

- Stendere la membrana di dialisi riempita in un vassoio contenente la soluzione PEG al 30% (w / v)
- Lasciare concentrare gli estratti overnight a $5^{\circ} \text{C} \pm 3^{\circ} \text{C}$.

NOTA 2: Se l'estratto non è abbastanza concentrato, lasciarlo nella soluzione PEG per più tempo o aggiungere altra polvere di PEG.

- Rimuovere la membrana di dialisi dalla soluzione PEG e sciacquare la parte esterna della membrana con acqua distillata per rimuovere ogni traccia di PEG.

Recuperare l'estratto concentrato utilizzando:

- **soluzione PBS nel caso in cui l'estratto contenga latte o prodotti lattiero-caseari**
- **acqua osmotizzata nel caso in cui l'estratto non contenga latte o prodotti lattiero-caseari**

Sciacquare bene la parte interna della membrana di dialisi per ottenere una massa finale concentrata da 5.0 g a 5.5 g (fino ad un massimo di 5.8 g per gli estratti viscosi).

Durante questo passaggio, si raccomanda di:

- Strofinare la parte interna della membrana di dialisi (strofinando una contro l'altra le parti interne) con le dita per prelevare e recuperare al massimo le enterotossine.
- Versare piccole gocce di PBS o di acqua osmotizzata (diverse aggiunte) e sciacquare più volte la membrana interna, al fine di recuperare tutte le enterotossine.

Trasferire l'estratto concentrato in una vial di vetro.

NOTA 3: se il peso iniziale del campione da analizzare è inferiore a 25 g (vedi paragrafo 9.5.1 nota 3, in caso di SFPO), prestare attenzione ad ottenere un rapporto finale pari a 5 tra il peso dell'estratto concentrato ed il peso della porzione analizzata.

In caso di SFPO o situazioni particolare, la porzione di massa da analizzare può essere differente dai 25 g. Il rapporto tra la massa di sostanza da analizzare e l'estratto concentrato è riportato nella seguente tabella:

Massa di sostanza da analizzare	Estratto concentrato
17.5 g – 25.0 g	3.5 g – 5.0 g (rapporto 5:1)
Da 12.5 g a 17.5 g	3.5 g (3.9 g max.)

NOTA 4: Se l'estratto concentrato è analizzato entro 48 ore, conservarlo a 5°C ± 3°C, altrimenti conservarlo a ≤ -18 °C. L'estratto deve essere completamente scongelato ed omogeneizzato prima dell'analisi.

10. Esecuzione del test

10.1. Indicazioni preliminari

Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (20-25°C / 68-77°F) prima dell'uso.

Il **tampone di lavaggio** è fornito concentrato 10 volte. Prima di diluirlo, disciogliere gli eventuali cristalli formati incubando il tampone in un bagno termostato a 37°C (98.6°F). Diluirlo prima dell'uso 1:10 (1+9) con acqua distillata (es. 10 ml di tampone concentrato + 90 ml di acqua distillata). Il tampone diluito è stabile a 2-8°C (35-46°F) per ca. quattro settimane.

10.2. Procedura del test

Un lavaggio accurato è importante per ottenere dei risultati sicuri. Evitare l'asciugamento dei pozzetti tra i vari passaggi del test.

1. Inserire un numero sufficiente di pozzetti nel supporto per tutti i controlli e tutti i campioni. Registrare le posizioni ad essi assegnate.
2. Versare 100 µl dei controlli e dei campioni nei rispettivi pozzetti, utilizzando un puntale nuovo per ciascun controllo o campione. Coprire i pozzetti con una pellicola e incubarli per 60 minuti a 35-37°C (95-98.6°F).
3. Svuotare i pozzetti in un lavandino e picchiettare energicamente la piastra (per tre volte di fila) capovolgendola su carta assorbente pulita in modo da eliminare tutto il liquido rimanente dai pozzetti. Lavare i pozzetti con 300 µl di tampone di lavaggio (vedi parag. 10.1) e rimuovere il liquido. Ripete la procedura per altre 4 volte.
4. Aggiungere 100 µl di coniugato 1 in ogni pozzetto. Assicurarsi che i pozzetti siano completamente vuoti prima di procedere con questo passaggio. Coprire i pozzetti e incubare per 60 minuti a 35-37°C (95-98.6°F).
5. Svuotare i pozzetti in un lavandino e picchiettare energicamente (per tre volte di fila) la piastra capovolgendola su carta assorbente pulita in modo da eliminare tutto il liquido rimasto dai pozzetti. Lavare i pozzetti con 300 µl di tampone di lavaggio (vedi parag. 10.1) e rimuovere il liquido. Ripete la fase di lavaggio per altre 4 volte.
6. Aggiungere 100 µl di coniugato 2 in ogni pozzetto. Assicurarsi che i pozzetti siano completamente vuoti prima di procedere con questa operazione. Coprire e incubare per 30 minuti a 35-37°C (95-98.6°F).
7. Svuotare i pozzetti in un lavandino e picchiettare energicamente (per tre volte di fila) la piastra capovolgendola su carta assorbente in modo da eliminare tutto il liquido dai pozzetti. Lavare i pozzetti con 300 µl di tampone di lavaggio (vedi parag. 10.1) e rimuovere il liquido. Ripete la procedura per altre 4 volte.
8. In ogni pozzetto aggiungere 100 µl di soluzione substrato/cromogeno. Assicurarsi che i pozzetti siano completamente vuoti prima di procedere con questa operazione. Incubare per 15 minuti a 35-37°C (95-98.6°F) al buio e leggere immediatamente i risultati.

9. Il viraggio del colore dal rosso al blu indica la presenza di enterotossine stafilococciche nei campioni. Lo sviluppo della colorazione tende a concentrarsi lungo i bordi dei pozzetti. Picchiettare delicatamente la micropiastra per distribuire uniformemente il colore prima di procedere alla lettura dei risultati.
10. Aggiungere 100 µl di soluzione di stop in ogni pozzetto. Il viraggio del colore dal blu al giallo indica la presenza di enterotossine stafilococciche nei campioni.
11. Misurare l'assorbanza a 450/620 nm con un lettore per micropiastre

11. Risultati

Per i test immunoenzimatici RIDASCREEN[®], R-Biopharm ha elaborato un apposito software di valutazione, denominato RIDA[®]SOFT Win, (Cod. Z9996).

11.1. Controllo di qualità per la validità del test:

Visivo:

Controllo positivo: Blu (giallo dopo l'aggiunta della soluzione di stop).

Controllo negativo: Azzurro chiaro o molto tenue (o giallo molto tenue se dopo aggiunta dello stop).

La valutazione è valida se entrambi i criteri sono soddisfatti.

Fotometrico:

Il controllo positivo deve raggiungere un valore di estinzione di 1.0 o superiore.

Il controllo deve avere un valore di estinzione inferiore a 0.2.

Se questi criteri non sono soddisfatti, verificare ed eventualmente correggere quanto segue prima di ripetere il test:

- controllare la data di scadenza del kit
- assicurare ai componenti del kit un tempo sufficiente per raggiungere la temperatura ambiente (20-25°C / 68-77°F)
- utilizzare un nuovo puntale per pipette per ogni campione o controllo al fine di evitare cross contaminazioni
- controllare il tampone di lavaggio per possibili contaminazioni (utilizzare acqua sterile per la preparazione dei campioni)
- lavaggi inadeguati o insufficienti come raccomandato al par. 10.2
- pipette contaminate (pulirle regolarmente)

11.2. Interpretazione dei risultati

Visivo:

1. Un campione è considerato POSITIVO quando il controllo negativo è incolore o azzurro molto tenue e il campione positivo ha una colorazione molto più intensa; comunque un campione positivo non deve avere necessariamente la stessa intensità di colore del controllo positivo.
2. Un campione è considerato NEGATIVO quando il controllo negativo è incolore o azzurro molto tenue e il campione ha una intensità di colore inferiore o uguale a quella del controllo negativo.

Fotometrico:

Il valore di cut-off per la valutazione dei risultati come POSITIVI o NEGATIVI è calcolato sommando 0.15 al valore OD del controllo negativo:

Valore di cut-off = valore di assorbanza del controllo negativo + 0.15

1. Un campione è considerato POSITIVO quando il test è valido e l'assorbanza del campione è uguale o superiore al valore di cut-off.
2. Un campione è considerato NEGATIVO quando il test è valido e l'assorbanza del campione è inferiore al valore di cut-off.

12. Identificazione delle enterotossine

Se i campioni sono considerati positivi con RIDASCREEN® SET Total, le singole tossine possono essere identificate utilizzando il test RIDASCREEN® SET A, B, C, D, E (Cod. R4101). In alcuni casi può essere necessaria la filtrazione sterile dei campioni.

I dati corrispondono al nostro attuale stato di tecnologia e forniscono informazioni sui nostri prodotti e sui loro usi. R-Biopharm non fornisce alcuna garanzia, esplicita o implicita, oltre a quella relativa alla qualità standard dei materiali di cui sono costituiti i suoi prodotti. Nel caso tali materiali risultassero difettosi, R-Biopharm si impegna a fornire prodotti sostitutivi. Non esiste garanzia di commerciabilità o di idoneità del prodotto per uno scopo particolare. R-Biopharm non è da ritenersi responsabile per danni, ivi compresi danni speciali o indiretti, o spese derivanti direttamente o indirettamente dall'utilizzo del prodotto.

R-Biopharm AG

Indirizzo:

An der neuen Bergstraße 17
64297 Darmstadt, Germany
Sitz / Corporate Seat: Pfungstadt
Tel.: +49 (0) 61 51 - 81 02-0
Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-40
E-mail: info@r-biopharm.de
www.r-biopharm.com