

# ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для определения содержания антибиотиков группы тетрациклина в пищевых продуктах, продовольственном сырье и кормах методом иммуноферментного анализа «ИФА антибиотик-тетрациклин», ТУ BY 193208315.007-2022

## **ВНИМАНИЕ!**

Изучите инструкцию перед  
началом работы



ООО «Альгимед Техно»  
Республика Беларусь,  
г. Минск, тр. Логойский, д.22,  
корп.1, ком.309

[techno@algimed.com](mailto:techno@algimed.com)

+375 29 893 14 44

[www.algimed-techno.com](http://www.algimed-techno.com)

## 1 НАЗНАЧЕНИЕ НАБОРА

Набор предназначен для количественного определения содержания антибиотиков группы тетрациклинов методом конкурентного иммуноферментного анализа в следующих матрицах:

- молоко (сырое, пастеризованное, стерилизованное, ультрапастеризованное), сливки, молоко сухое восстановленное, десерты на молочной основе, масло сливочное, сгущенное молоко, мороженное на молочной основе, коктейли на молочной основе (в т. ч. йогуртные), восстановленные сухие молочные смеси для детского питания;

- сыр, творог и творожные продукты (в том числе творожные сырки, зерненный творог, творожная масса, творожная паста и подобные продукты с наполнителями и без), кисломолочные продукты (кефир, ряженка, айран, йогурт, простокваша, варенец, ацидофилин с наполнителями и без), сметана, пахта, молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка;

- мясо, готовые к употреблению мясные продукты, полуфабрикаты мясные и мясорастительные, консервы мясные и мясорастительные, сало, шпик, жиры животные, субпродукты;

- рыба, переработанная и непереработанная пищевая рыбная продукция животного происхождения, в т.ч. для детского питания (кулинарные изделия и полуфабрикаты из рыбы, рыбные консервы и пресервы, икра, варено-мороженая пищевая рыбная продукция), креветки, яйца, яичный порошок, мед;

- сыворотка крови.

## 2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

### 2.1 Состав набора

Компонент набора	Количество	Хранение
Микротитровальный планшет, 12 стрипов по 8 лунок	1 шт.	2 – 8°C
Конъюгат	16 мл	2 – 8°C
Основной стандарт тетрацилина массой 225 нг для приготовления градуировочных растворов	3 шт.	2 – 8°C
Пустые флаконы для приготовления градуировочных растворов тетрацилина с концентрацией 0 нг/см <sup>3</sup> , 0,05 нг/см <sup>3</sup> , 0,15 нг/см <sup>3</sup> , 0,40 нг/см <sup>3</sup> , 0,80 нг/см <sup>3</sup> , 1,6 нг/см <sup>3</sup>	6 шт.	2 – 8°C
Растворитель для приготовления градуировочных растворов	30 мл	2 – 8°C
Раствор антител к тетрацилину	12 мл	2 – 8°C
5-ти кратный концентрат экстракционного буферного раствора*	55 мл	2 – 8°C
Концентрат буферного раствора для доведения проб*	1,5 мл	2 – 8°C
10-ти кратный концентрат буферного раствора для разбавления проб*	10 мл	2 – 8°C
20-ти кратный концентрат промывочного раствора*	28 мл	2 – 8°C
ТМБ-субстрат*	12 мл	2 – 8°C
Стоп-реагент*	12 мл	2 – 8°C
Лиофилизованная проба с высокой концентрацией тетрацилина (150нг), предназначенная для контаминации проб (внесения добавок)	1 шт.	2 – 8°C

\*Следующие компоненты набора реагентов являются взаимозаменяемыми в пределах их срока хранения при условии совпадения их номера серии в наборах реагентов производства ООО «Альгимед Техно».

### 2.2 Пределы обнаружения тетрацилина

Виды продукции	Диапазон измерений, мкг/кг (мкг/л)
молоко (сырое, пастеризованное, стерилизованное, ультрапастеризованное), сливки, молоко сухое восстановленное, десерты на молочной основе, масло сливочное, сгущенное молоко, мороженное на молочной основе, коктейли на молочной основе (в т. ч. йогуртные), восстановленные сухие молочные смеси для детского питания	1,0-80,0
сыр, творог и творожные продукты (в том числе творожные сырки, зерненный творог, творожная масса, творожная паста и подобные продукты с наполнителями и без), кисломолочные продукты (кефир, ряженка, айран йогурт, простокваша, варенец, ацидофилин с	1,0-80,0



ООО «Альгимед Техно»  
Республика Беларусь,  
г. Минск, тр. Логойский, д.22,  
корп.1, ком.309

techno@algimed.com

+375 29 893 14 44

наполнителями и без), сметана, пахта, молочная сыворотка, восстановленная сухая молочная сыворотка	
мясо, готовые к употреблению мясные продукты, полуфабрикаты мясные и мясорастительные, консервы мясные и мясорастительные, сало, шпик, жиры животные, субпродукты	1,0-80,0
рыба, переработанная и непереработанная пищевая рыбная продукция животного происхождения, в т.ч. для детского питания (кулинарные изделия и полуфабрикаты из рыбы, рыбные консервы и пресервы, икра, варено-мороженая пищевая рыбная продукция), креветки, яйца, яичный порошок	1,0-80,0
масло сливочное	3,0-160,0
мед	3,0-80,0
сыворотка крови	3,0-320,0

### 2.3 Специфичность

Анализируемое вещество	Перекрестная чувствительность (%)
Тетрациклин (ТЕТ)	100
Хлортетрациклин	80
Доксициклин	38
Демеклоциклин	67
Окситетрациклин	52
4-Эпитетрациклин гидрохлорид	39
4-Эпихлортетрациклин гидрохлорид	42
4-Эпиокситетрациклин	44

### 3 ПРИНЦИП МЕТОДА РАБОТЫ НАБОРА

Используемый метод основан на конкурентном колориметрическом иммуноферментном анализе. В ходе анализа в лунки планшета, покрытого антибиотиком, вместе с пробой добавляют первичные антитела, специфичные к исследуемому антибиотику. Если в пробе присутствует антибиотик, он конкурирует за связывание с антителом, препятствуя, таким образом, его связыванию с прикрепленным к лункам планшета антибиотиком. После внесения вторичных антител, конъюгированных с ферментом пероксидазой, последние связываются с первичными антителами, связанными с тетрациклином в лунке. После добавления субстрата, а затем стоп-реагента, измеряется оптическая плотность раствора при 450 нм. Измеренная оптическая плотность находится в обратной зависимости от концентрации тетрациклина в градуировочном растворе и антибиотика в растворе пробы. Массовая концентрация тетрациклина (антибиотика) в образце определяется по градуировочной зависимости, построенной с использованием 6 градуировочных растворов.

### 4 ПРАВИЛА РАБОТЫ С НАБОРОМ

#### 4.1 Подготовка лабораторной посуды

Сильнозагрязненную лабораторную посуду предварительно обрабатывают хромовой смесью. Лабораторную посуду после мойки в растворе моющего средства промывают водопроводной водой, ополаскивают дистиллированной водой два раза и высушивают. Запрещается многократное использование одноразовой лабораторной посуды.

#### 4.2 Условия выполнения измерений и инкубации планшетов

При выполнении измерений в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха от 20 °С до 25 °С; относительная влажность воздуха не более 80%;
- не должно происходить попадание прямых солнечных лучей на планшет, микротитровальный планшет не должен подвергаться воздействию сильных естественных или искусственных потоков воздуха, вызванных, например, принудительной вентиляцией;
- с целью устранения воздействия холодной поверхности стола, на котором находится планшет, рекомендуется помещать под него теплоизоляционный материал, например, сложенное в несколько слоев бумажное полотенце;
- при низкой относительной влажности воздуха и наличии воздушных потоков с целью устранения возможности испарения содержимого лунок рекомендуется покрывать планшет пленой «парафильм»;



- в особых случаях, которые оговорены по тексту инструкции, требуется помещать планшет в защищенное от света место, например, в ящик стола.

## 5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

### 5.1 Оборудование

- Весы лабораторные;
- Автоматический микропланшетный фотометр с фильтром на 450 нм;
- Центрифуга лабораторная;
- Лабораторный вихревой шейкер или шейкер;
- Баня водяная;
- Холодильник бытовой;
- Дозаторы одноканальные объемом дозирования 5-50, 50-200, 100-1000 мкл;
- Дозатор восьмиканальный объемом дозирования 50-300 мкл.

#### Опционально:

- Инкубатор для микротитровальных планшетов;
- Автоматическое устройство для промывания иммунологических планшетов.

### 5.2 Реактивы, не входящие в состав набора

- вода дистиллированная или вода деионизированная.

## 6 ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ

### 6.1 Отбор образцов

Отбор образцов проводят по СТБ 1036 или другому принятому нормативному документу, регламентирующему отбор образцов. Отобранные образцы могут храниться в защищенном от света месте при температуре от 2 °С до 8 °С в течение 2-х суток или в замороженном виде при температуре не выше минус 18 °С в течение 14 суток (при необходимости допускается хранение проб до 2 месяцев). Перед проведением подготовки проб замороженные образцы должны быть разморожены при температуре от 2° С до 8° С.

### 6.2 Приготовление растворов

Приготовленные растворы готовятся перед использованием и хранению не подлежат.

#### 6.2.1 Приготовление экстракционного буферного раствора

В коническую колбу приливают дозатором или цилиндром аликвоту 5-ти кратного концентрата экстракционного буферного раствора, добавляют цилиндром в 4 раза больший по отношению к объему добавленной аликвоты концентрата объем дистиллированной воды и перемешивают раствор.

#### 6.2.2 Приготовление буферного раствора для разбавления проб

В коническую колбу приливают дозатором или цилиндром аликвоту 10-ти кратного концентрата буферного раствора для разбавления проб, добавляют цилиндром в 9 раз больший по отношению к объему добавленной аликвоты концентрата объем дистиллированной воды и перемешивают раствор.

#### 6.2.3 Приготовление буферного раствора для доведения проб

В коническую колбу приливают дозатором аликвоту концентрата буферного раствора для доведения проб, добавляют цилиндром в 99 раз больший по отношению к объему добавленной аликвоты концентрата объем готового буферного раствора для разбавления проб (приготовленного по п. 6.2.2) и перемешивают раствор.

#### 6.2.4 Приготовление основного раствора тетрацилина с концентрацией 150 нг/см<sup>3</sup>

К содержимому флакона с основным лиофилизированным стандартом тетрацилина (225 нг) добавляют 1,5 мл растворителя для приготовления градуировочных растворов, отмеренного дозатором. Содержимое закрытого флакона перемешивают на вихревой шейкер в течение 1 мин. Полученный основной раствор тетрацилина может быть разделен на аликвоты по 0,2 мл и храниться при температуре не выше минус 18°С не более 4 месяцев. При использовании замороженного раствора тетрацилина с концентрацией 150 нг/см<sup>3</sup> необходимо после



его разморозки тщательно перемешать путем многократного пипетирования (15-20 раз). Размораживать основной раствор тетрацилина можно 1 раз.

### 6.2.5 Приготовление градуировочных растворов тетрацилина

Градуировочные растворы тетрацилина готовят путем последовательного разбавления основного раствора тетрацилина с концентрацией 150 нг/см<sup>3</sup> следующим образом. В соответствующий флакон для градуировочных растворов вносят аликвоту раствора тетрацилина и аликвоту растворителя для приготовления градуировочных растворов. Раствор тетрацилина, от которого отбирается аликвота, и объемы аликвот раствора и растворителя, используемые для приготовления градуировочных растворов, указаны в таблице ниже. Содержимое закрытого флакона перемешивают на вортексе в течение 1 мин.

Номер градуировочного раствора	Концентрация градуировочного раствора, нг/см <sup>3</sup>	Источник аликвоты раствора тетрацилина для приготовления градуировочного раствора	Объем аликвоты раствора тетрацилина	Объем растворителя для приготовления градуировочных растворов
6	1,60	раствор тетрацилина 150 нг/см <sup>3</sup>	20 мкл	1855 мкл
5	0,80	град, раствор № 6	500 мкл	500 мкл
4	0,40	град, раствор № 5	500 мкл	500 мкл
3	0,15	град, раствор № 4	375 мкл	625 мкл
2	0,05	град, раствор № 3	200 мкл	400 мкл
1	0,00	-	-	500 мкл

После использования остатки градуировочных растворов должны быть удалены из флаконов, подлежащих хранению. Пустые флаконы должны храниться в составе набора реагентов в холодильнике при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С в течение срока годности набора и использоваться при последующем приготовлении градуировочных растворов.

### 6.2.6 Приготовление лиофилизированной пробы с высокой концентрацией тетрацилина (150нг), предназначенной для контаминации проб (внесения добавок)

К содержимому флакона с лиофилизированной пробой с высокой концентрацией тетрацилина добавляют 1,5мл растворителя для приготовления градуировочных растворов проб, отмеренного дозатором. Содержимое закрытого флакона перемешивают на вортексе в течение 1 мин. Концентрация полученного раствора тетрацилина составляет 100 нг/см<sup>3</sup>. Данный раствор пробы с высоким содержанием тетрацилина может быть разделен на аликвоты по 0,2 мл и храниться при температуре не выше минус 18°С не более 4 месяцев. При использовании замороженной пробы тетрацилина с концентрацией 100 нг/см<sup>3</sup> необходимо после ее разморозки тщательно перемешать путем многократного пипетирования (15-20 раз). Размораживать раствор пробы с высоким содержанием тетрацилина можно 1 раз.

#### 7 ПОДГОТОВКА ПРОБ

- Полученные подготовленные пробы используются для проведения ИФА. Допускается хранение подготовленных проб при температуре от + 20 °С до +25 °С в течение двух часов.
- При отсутствии центрифуги с охлаждением пробирки перед центрифугированием выдерживают в морозильной камере холодильника в течение 10-15 минут, охлаждая пробы до температуры от +7 °С до +8°С, контролируя температуру термометром. После центрифугирования шпателем или пипеткой Пастера удаляют верхний жировой слой.

#### 7.1 Подготовка проб молока (сырого, стерилизованного, пастеризованного, ультрапастеризованного), сливок, десертов на молочной основе, молочной сыворотки, кисломолочных продуктов, творожных продуктов, коктейлей на молочной основе, пахты

- ✓ Перед началом пробоподготовки температуру образца доводят от +20°С до + 25 °С, выдерживая его при комнатной температуре.
- ✓ При наличии в образце частиц твердой консистенции их отбрасывают.
- ✓ Образцы тщательно перемешивают.



ООО «Альгимед Техно»  
Республика Беларусь,  
г. Минск, тр. Логойский, д.22,  
корп.1, ком.309

techno@algimed.com

+375 29 893 14 44

**7.1.1. Получение обезжиренного молока, сливок**

- Образец переносят в коническую колбу до половины ее вместимости, и тщательно перемешивают на вортексе.
- Отбирают две параллельные пробы объемом по 5 мл и помещают в пробирки для центрифугирования объемом вместимостью 15 мл.
- Центрифугируют в следующем режиме: 10 °С, 4000 g, 10 минут.

**7.1.2. Получение растворов проб**

- Навески массой 1,00 г / 1,00 мл помещают в пробирки для центрифугирования объемом 15 мл.
- Добавляют 3,0 мл экстракционного буферного раствора и перемешивают 10 мин на вортексе на максимальной скорости или ротационном смесителе 30 мин.
- Центрифугируют в следующем режиме: 4000 g, 10 мин.
- 0,2 мл супернатанта переносят в стеклянные пробирки вместимостью 5 мл, избегая попадания в пробу верхнего жирного слоя (перед тем, как дозировать пробу в пробирку, наконечник пипет-дозатора вытирают фильтровальной бумагой, для удаления возможных следов жира).
- Вносят по 0,3 мл буферного раствора для доведения проб и перемешивают 1 мин на вортексе.

**Примечание: Фактор разведения: 10**

**7.2 Подготовка проб восстановленного сухого молока, восстановленной сухой молочной сыворотки, восстановленных сухих молочных смесей для детского питания****7.2.1 Получение восстановленного сухого молока**

- От образца сухого молока отбирают две навески массой 1 г в пробирки объемом 10 мл
- Добавляют 9 мл дистиллированной воды и встряхивают пробирки до полного растворения
- Выдерживают 15 мин и перемешивают

**7.2.2. Получение восстановленной молочной сыворотки**

- В мерные колбы (100 мл) помещают 2 параллельные навески образца массой 6,25 г.
- К навеске приливают небольшими порциями по 10 ~ 20 мл дистиллированную воду, перемешивая содержимое вращением колбы до полного растворения, затем доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

**7.2.3. Получение проб сухих молочных смесей для детского питания**

Восстановление проб сухих молочных смесей для детского питания проводят по инструкции производителя.

**7.2.4. Получение обезжиренных проб**

Проводят аналогично пункту 7.1.1.

**7.2.5. Получение растворов проб**

Проводят аналогично пункту 7.1.2.

**Примечание: Фактор разведения: 10**

**7.3 Подготовка проб яиц, яичного порошка, сыра, меда, сгущенного молока, мороженого на молочной основе**

- ✓ Перед началом пробоподготовки температуру образца доводят до +20°С до +25 °С, выдерживая его при комнатной температуре.
- ✓ У образца сыра отделяют тесто от корки, полимерно-парафинового или воскового сплава, измельчают тесто с помощью терки и перемешивают.
- ✓ У образцов яиц отделяют скорлупу и гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера.
- ✓ От образцов мороженого предварительно удалить шоколадную глазурь, вафельную оболочку и другие твердые включения.
- ✓ Образец яичного порошка перемешивают и восстанавливают в соответствии с п 5.2.2 ГОСТ 30364.0. Перед отбором навесок восстановленный яичный порошок тщательно перемешивают.

**7.3.1. Получение растворов проб**

- Отбирают две навески для параллельных определений массой 1,00 г и помещают в пробирки для центрифугирования объемом 15 мл.



- Добавляют 3,0 мл экстракционного буферного раствора, инкубируют 2 минуты при температуре 75 °С на водяной бане и перемешивают 10 мин на вортексе на максимальной скорости или ротационном смесителе в течение 30 мин.
- Для образцов сгущенного молока и меда необходимо добиться полного растворения при нагревании на водяной бане при 75 °С ±1 °С.
- Центрифугируют в следующем режиме: 4000 g, 10 мин.
- Отбирают 0,2 мл супернатанта, избегая попадания в пробу верхнего жирного слоя (перед тем, как вылить в пробирку, наконечник пипет-дозатора вытирают фильтровальной бумагой, для удаления возможных следов жира) и переносят в стеклянные пробирки вместимостью 5 мл.
- Вносят 0,3 мл буферного раствора для доведения проб и перемешивают 1 мин на вортексе.

**Примечание:** Фактор разведения: 10

#### 7.4 Подготовка проб масла сливочного

- ✓ Перед началом пробоподготовки температуру образца доводят до +20°С до +25 °С, выдерживая его при комнатной температуре.
- ✓ Образцы гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера.

##### 7.4.1. Получение растворов проб

- Отбирают две навески массой 1,00 г и помещают в пробирки для центрифугирования объемом 15 мл.
- Добавляют 3,0 мл экстракционного буферного раствора, инкубируют 2 минуты при температуре 75 °С на водяной бане и перемешивают 10 мин на вортексе на максимальной скорости или ротационном смесителе в течение 30 мин.
- Центрифугируют в следующем режиме: 4000 g, 10 мин.
- Отбирают 0,2 мл супернатанта, избегая попадания в пробу верхнего жирного слоя (перед тем, как влить в пробирку, наконечник пипет-дозатора вытирают фильтровальной бумагой, для удаления возможных следов жира) и переносят в стеклянные пробирки вместимостью 5 мл.
- В пробирки с аликвотами супернатанта вносят по 0,8 мл буферного раствора для доведения проб и перемешивают 1 мин на вортексе.

**Примечание:** Фактор разведения: 20

#### 7.5 Подготовка проб мяса, готовых к употреблению мясных продуктов, сала, шпика, рыбы, рыбной продукции, креветок, субпродуктов, консервов мясных и мясорастительных, жира животного

- ✓ Перед началом пробоподготовки температуру образца доводят до +20°С до +25 °С, выдерживая его при комнатной температуре.
- ✓ Образцы гомогенизируют с помощью гомогенизатора или блендера.

##### 7.5.1. Получение растворов проб

- Отбирают две навески массой 1,00 г, и помещают в пробирки для центрифугирования объемом 15 мл.
- Добавляют 3,0 мл экстракционного буферного раствора, инкубируют 2 минуты при температуре 75 °С на водяной бане и перемешивают 10 мин на вортексе на максимальной скорости или ротационном смесителе в течение 30 мин.
- Центрифугируют в следующем режиме: 4000 g, 10 мин.
- Отбирают 0,2 мл нижнего водного слоя, избегая попадания в пробу верхнего жирного слоя, и переносят в стеклянные пробирки объемом 5 мл.
- Вносят 0,3 мл буферного раствора для доведения проб и перемешивают 1 мин на вортексе.

**Примечание:** Фактор разведения: 10

#### 7.6 Получение растворов проб с увеличенным фактором разведения

В случаях, когда оптическая плотность исследуемых проб меньше оптической плотности последней калибровочной пробы градуировочного раствора с концентрацией тетрацилина 1,6 нг/см<sup>3</sup> переносят 0,1 мл подготовленной пробы для проведения анализа ИФА в чистую стеклянную пробирку объемом 5 мл и добавляют 0,4 мл буферного раствора для разбавления проб приготовленного по п.6.2.2. Перемешивают на вортексе 1 минуту.

**Примечание:** Фактор разведения: 50 для всех матриц, кроме сливочного масла.

**Примечание:** Фактор разведения: 100 для сливочного масла.



## 7.7 Подготовка проб сыворотки крови

- Образцы гомогенизируют
- Отбирают пробы объемом 0,2 мл, и помещают в пробирки для центрифугирования объемом 1,5 мл.
- Центрифугируют при 4000 g 5 минут. Отбирают 100 мкл супернатанта и помещают в пробирки 15 мл.
- Добавляют 3,9 мл Растворителя для приготовления градуировочных растворов. Перемешивают на вортексе 1 минуту.
- Используют 75 мкл для внесения в лунку.

Примечание: Фактор разведения: 40

## 8 ПОДГОТОВКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

### 8.1 Предварительная подготовка и правила обращения с наборами реагентов

тов

Набор реагентов извлекают из холодильника, не открывая упаковку микротитровального планшета, выдерживают при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С от 1 до 2 ч, доводят температуру остальных реагентов от плюс 20 °С до плюс 25 °С.

При работе необходимо исключить прямое попадание солнечных лучей на компоненты набора реагентов.

Перед использованием жидкие реагенты необходимо перемешать путем осторожного вращения или переворачивания флаконов. Не допускается переливать обратно в оригинальные флаконы остатки реагентов, используемых при проведении измерений.

### 8.2 Подготовка микротитровального планшета

Микротитровальный планшет со стрипами вынимают из упаковки. В рамку микротитровального планшета помещают необходимое количество стрипов, рассчитанное исходя из требуемого для проведения измерений количества лунок. Оставшиеся стрипы сразу же помещают в упаковку, закрывают и хранят при температуре от +2 °С до +8 °С.

При использовании набора реагентов «ИФА антибиотик - тетрацилин» допускается в ходе проведения измерений выполнение ИФА более чем с шестью стрипами одновременно. Для этого внесение раствора антител к тетрацилину по п. 9.2, конъюгата по п.9.5, ТМБ-субстрата по п. 9.8, стоп-реагента по п. 9.10, проводят с использованием многоканального дозатора. Отбор указанных выше реагентов многоканальным дозатором производят из предварительно наполненных отбираемым раствором одноразовых ванночек для реагентов.

При этом не допускается:

- ✓ выливать реагент из одноразовой ванночки обратно во флакон;
- ✓ использовать одноразовую ванночку повторно.

### 8.3 Подготовка реагентов для ИФА –анализа

#### 8.3.1 Приготовление промывочного раствора

Аликвоту 20-ти кратного концентрата промывочного раствора, отмеренную мерным цилиндром, переносят в коническую колбу, приливают отмеренную мерным цилиндром дистиллированную воду, объем которой в 19 раз больше объема аликвоты концентрата, и перемешивают. Полученный раствор хранят при температуре от +2 °С до +8 °С не более 6 недель в стеклянной или полиэтиленовой посуде.

## 9 ПРОВЕДЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

**9.1** Вносят 75 мкл каждого градуировочного раствора и образца в две параллельные лунки. Внесение производится в порядке возрастания концентраций градуировочных растворов.

**9.2** В каждую лунку вносят по 100 мкл раствора антител к тетрацилину. Перемешивают содержимое лунок медленными круговыми движениями планшета по поверхности стола в течение 1 мин.

**9.3** Инкубируют планшет при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С в течение 55 мин или в термостате (инкубаторе) при температуре от плюс 36 °С до плюс 38 °С в течение 30 мин.

**9.4** Выливают содержимое лунок путем резкого переворачивания рамки планшета. Промывают планшет три раза, добавляя при этом каждый раз многоканальным дозатором в лунки по 250 мкл промывочного раствора и затем выливая его резким





переворачиванием планшета. Выполняют следующий этап сразу после промывания планшета. Не допускается высыхание планшета на воздухе в перерывах между этапами работы.

Рекомендуется проводить процедуру промывки планшета с помощью устройства для отмытки планшетов, задавая следующие параметры программы: количество циклов промывки – три, объем заливаемого моющего раствора – 250 мкл. После последнего промывания планшет переворачивают и удаляют остатки жидкости легким постукиванием по поверхности стола, накрытого сухим листом фильтровальной бумаги.

**9.5** Вносят 150 мкл конъюгата, и аккуратно круговыми движениями рамки микротитровального планшета перемешивают содержимое лунок.

**9.6** Инкубируют при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С в течение 25 мин или в термостате (инкубаторе) при температуре от плюс 36 °С до плюс 38 °С в течение 20 мин.

**9.7** Промывают лунки микротитровального планшета в соответствии с п. 9.4.

**9.8** Вносят 100 мкл ТМВ-субстрата, после чего сразу же засекают время начала инкубации. Перемешивают содержимое лунок медленными круговыми движениями планшета по поверхности стола в течение 1 мин.

**Не допускается** выливать обратно в оригинальный флакон остатки ТМВ-субстрата во избежание его контаминации.

**9.9** Помещают планшет в инкубатор при температуре от плюс 20 °С до плюс 25 °С и инкубируют в течение 15 мин. При отсутствии инкубатора микротитровальный планшет инкубируют в помещении в защищенном от света месте.

**9.10** Сразу же после окончания времени инкубации в каждую лунку вносят по 100 мкл стоп-реагента и аккуратными круговыми движениями планшета перемешивают содержимое лунок.

**9.11** Протирают микрофибровой салфеткой нижнюю наружную поверхность лунок и измеряют оптическую плотность раствора в лунках с помощью автоматического фотометра при длине волны 450 нм. Измерение необходимо провести не позднее 5 минут после добавления стоп-реагента.

## 10 ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЯ

### 10.1 Расчет массовой концентрации тетрацилина

Шаблон для обработки результатов измерений средствами Microsoft® Office Excel «Шаблон ИФА антибиотик - тетрацилин», разработанный ООО «Альгимед Техно», производит автоматическую обработку результатов измерений оптической плотностей градуировочных растворов и проб.

## 11. СВЕДЕНИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

Общество с ограниченной ответственностью «Альгимед Техно» (ООО "Альгимед Техно")  
УНП 193208315

**Юр.адрес:** Беларусь, г. Минск, тр.Логойский, д. 22, корп. 1, ком. 309.

**Тел.** + 375 29 893 14 44

**Отдел контроля качества:** + 375 29 101 27 68

**Почтовый адрес:** 220073, г. Минск, а/я №151, Беларусь

**E-mail:** [techno@algimed.com](mailto:techno@algimed.com)

[www.algimed-techno.com](http://www.algimed-techno.com)

Сертифицированная система менеджмента качества, отвечающая требованиям **ISO 9001-2015**.

## 12 ОФИЦИАЛЬНЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ НА ТЕРРИТОРИИ РФ

Общество с ограниченной ответственностью «Альгимед»

121596, Российская Федерация, г. Москва, ул. Говорова

д. 16, корпус 6, этаж 1, комн. 7, 14 Тел. +7 499 682 61 09



ООО «Альгимед Техно»  
Республика Беларусь,  
г. Минск, тр. Логойский, д.22,  
корп.1, ком.309

[techno@algimed.com](mailto:techno@algimed.com)

+375 29 893 14 44