

Product information

Information about other products is available at: www.demeditec.com



User's Manual

Streptomycin ELISA

Enzyme Immunoassay for the quantitative determination of Streptomycin in food

REF DESTRE02

 **96 wells**

Sensitivity	1 ng/mL
Recovery (spiked samples)	70-120 %
Incubation Time	60 min

1. GENERAL INFORMATION

Streptomycin consists of three components, which are linked together by glycoside bonds, and it belongs to the group of the aminoglycoside antibiotics. Streptomycin is naturally produced by the actinobacterium *Streptomyces griseus*, and its activity is directed against gram-negative bacteria and the tubercle bacillus. Therapeutically it is used in the case of streptococcal and enterococcal enteritis. Because of its side effects (damage of equilibrium and auditory nerve, as well as the kidney) it is rarely used in the human treatment, but has an application in the veterinary area. After the treatment of mastitis in breeding animals, elevated streptomycin values were also measured in liver, kidney, muscle and milk. The maximum permissible values are in these cases: 500 µg/kg, 1000 µg/kg, 500 µg/kg and 200 µg/kg. Another application of the antibiotic streptomycin under the brand name of Plantomycin is the treatment of the illness of fruit trees called fire blight. In order to reduce the transmission to humans, maximum permissible values were defined in the European Union. The German critical value for streptomycin in honey according to the RHmV regulation is at the moment 20 µg/kg.

2. PRINCIPLE OF THE TEST

The **Streptomycin** quantitative test is based on the principle of the enzyme-linked immunosorbent assay. An antibody directed against mouse immunoglobulins is coated on the surface of a microtiter plate. Streptomycin containing samples or standards and an antibody directed against streptomycin are given into the wells of the microtiter plate. The streptomycin contained in samples or standards will bind to the antibody which reacts with the anti-mouse antibody coated onto the microtiter plate. After 30 minutes incubation at room temperature a streptomycin-peroxidase conjugate is added into the wells without a preceding washing step to saturate free antibody binding sites. After additional 15 minutes incubation at room temperature the wells are washed with diluted washing solution to remove unbound material. A substrate solution is added and incubated for 15 minutes, resulting in the development of a blue colour. The colour development is inhibited by the addition of a stop solution, and the colour turns yellow. The yellow colour is measured photometrically at 450 nm. The concentration of streptomycin is indirectly proportional to the colour intensity of the test sample.

3. PRECAUTIONS

Full compliance of the following good laboratory practices (GLP) will determine the reliability of the results:

1. Prior to beginning the assay procedure, bring all reagents to room temperature (20-25°C).
2. All reagents should be mixed by gentle inversion or swirling prior to use. Do not induce foaming.
3. Once the assay has been started, all subsequent steps should be completed without interruption and within the recommended time limits.
4. Replace caps in all the reagents immediately after use. Do not interchange vial stoppers.
5. Use a separate disposable tip for each specimen to prevent cross-contamination.
6. All specimens and standards should be run at the same time, so that all conditions of testing are the same.
7. Do not mix components from different batches.
8. Do not use reagents after expiration date.
9. Check both precision and accuracy of the laboratory equipment used during the procedure (micropipets, ELISA reader etc.).

4. HEALTH AND SAFETY INSTRUCTIONS

1. Do not smoke or eat or drink or pipet by mouth in the laboratory.
2. Wear disposable gloves whenever handling patient specimens.
3. Avoid contact of substrate and stop solution with skin and mucosa (possible irritation, burn or toxicity hazard). In case of contact, rinse the affected zone with plenty of water.
4. Handling and disposal of chemical products must be done according to good laboratory practices (GLP).

5. REAGENTS

The kit contains reagents for 96 determinations. They have to be stored at 2-8°C. Expiry data are found on the labels of the bottles and the outer package.

1. **SORB** **MT** Microtiter plate consisting of 12 strips with 8 breakable wells each, coated with anti-mouse antibody.
2. **CAL** **1** – **6** Streptomycin Standards (0, 2, 5, 20, 50, 200 ng/mL): 6 vials with 1 mL each, dyed red, ready-to-use.
3. **Ab** Anti-Streptomycin Antibody (mouse): 6 mL, dyed red, ready-to-use.
4. **ENZ** **CONJ** Conjugate (Streptomycin-Peroxidase): 6 mL, dyed red, ready-to-use.
5. **SUB** **TMB** Substrate Solution (TMB): 15 mL, prestained red, ready-to-use.
6. **STOP** **SOLN** Stop Solution (1 N acidic solution): 15 mL, ready-to-use.
7. **SAM** **DIL** Sample Diluent (PBS): 2 x 60 mL, dyed red, ready-to-use.
8. **WASH** **SOLN** **10x** Washing Solution (PBS + Tween 20): 60 mL as 10x concentrate. Dilute 1+9 with distilled water. If during the cold storage crystals precipitate, the concentrate should be warmed up to 37°C for 15 minutes.
9. Instruction Manual.

6. ADDITIONAL INSTRUMENTATION AND REAGENTS (NOT PROVIDED)

Instrumentation

- 50, 100, 500 and 1000 µL-micropipets
- ELISA reader (450 nm)
- Centrifuge
- Ultra-Turrax, mixer, vortex
- Plastic foils to cover the strips during the incubation.
- Plastic bag to store unused microtiter strips.

Reagents

- Double distilled water
- 0.01 M PBS (8.77 g/L NaCl, 0.7 g/L Na₂PO₄·2H₂O, 2.9 g/L Na₂HPO₄·2H₂O, pH 7.3)
- Extraction buffer (2.0 g heptanesulfonic acid sodium salt, 1.9 g Na₃PO₄·12H₂O ad 200 mL double distilled water, adjust pH 2.0 with o-phosphoric acid)
- Methanol (100%)
- Potassiumhexacyanoferrate(II)-3-hydrate (150 g/L; Carrez I)
- Zinc sulfate-7-hydrate (300 g/L; Carrez II)

7. SAMPLE PREPARATION

Honey (Screening Method)

- Dissolve 2 g honey sample in 10 mL double distilled water.
- Further dilute this extract 1:4 with sample diluent.
- Sample dilution factor: F=20

Honey (Sensitive Method; C18 SPE)

- Fill 1 g honey sample up to 10 mL extraction buffer. Clear sample by centrifugation (10 minutes at 3000 g).
- Rinse a C18 SPE column with 2 mL methanol (100%) followed by 2 mL double distilled water.
- Push 5 mL sample slowly through the column (ca. 1 mL/min).
- Rinse column with 3 mL double distilled water.
- Dry column 2 minutes by air or nitrogen stream.
- Apply 1 mL methanol (100%) onto the column and elute sample (ca. 1 mL/min).
- Evaporate eluate in an air or nitrogen stream at 50-60°C.
- Dissolve the residue in 2 mL sample diluent and test this sample in the ELISA.
- Sample dilution factor: F=4

Shrimps

- Mill and homogenize sample with an appropriate device (mixer, ultra-turrax).
- Mix 1 g sample with 4 mL 0.01 M PBS and agitate vigorously for 30 minutes.
- Centrifuge for 10 minutes at 3000 g.
- Dilute the clear supernatant 1:4 in sample diluent and test this sample in the ELISA.
- Sample dilution factor: F=16

Meat

- Mill and homogenize sample with an appropriate device (mixer, ultra-turrax).
- Mix 1 g sample with 4 mL 0.01 M PBS and agitate vigorously for 30 minutes.
- Centrifuge for 10 minutes at 3000 g.
- Dilute the clear supernatant 1:6 in sample diluent and test this sample in the ELISA.
- Sample dilution factor: F=24

Liver

- Mill and homogenize sample with an appropriate device (mixer, ultra-turrax).
- Mix 1 g sample with 4 mL 0.01 M PBS and agitate vigorously for 30 minutes.
- Centrifuge for 10 minutes at 3000 g.
- Dilute the clear supernatant 1:8 in sample diluent and test this sample in the ELISA.
- Sample dilution factor: F=32

Milk

- Refrigerate to 2-8°C and centrifuge at 3000 g for 10 minutes.
- Remove or penetrate the upper fat layer, dilute milk 1:8 in sample diluent and test this sample in the ELISA.
- Sample dilution factor: F=8

Whole Egg (raw)

- Homogenize sample with an appropriate device (ultra-turrax, mixer, vortex).
- Add 250 µL Carrez I to 5 mL egg sample, mix well and add 250 µL Carrez II afterwards.
- Mix sample and centrifuge at 3000 g for 10 minutes.
- Dilute the supernatant 1:15 in sample diluent and test this sample in the ELISA.
- Sample dilution factor: F=16.5

8. PROCEDURE

1. Prepare samples as described above.
2. Pipet 100 µL standards or prepared samples in duplicate into the appropriate wells of the microtiter plate. Immediately add 50 µL anti-streptomycin antibody into each well.
3. Cover the microtiter plate with a plastic foil and incubate for 30 minutes at room temperature.
4. Without preceding washing add 50 µL streptomycin-peroxidase conjugate into each well.
5. Cover the microtiter plate with a plastic foil and incubate additional 15 minutes at room temperature.
6. Wash the plate three times as follows: Discard the contents of the wells (dump or aspirate). Pipet 300 µL of diluted washing solution into each well. After the third repetition empty the wells again and remove residual liquid by striking the plate against a paper towel. The wash procedure is critical. Insufficient washing will result in poor precision and falsely elevated absorbencies.
7. Pipet 100 µL of substrate solution into each well.
8. Allow the reaction to develop in the dark (e.g. cupboard or drawer; the chromogen is light-sensitive) for 15 minutes at room temperature.
9. Stop enzyme reaction by adding 100 µL of stop solution (1 N acidic solution) into each well. The blue colour will turn yellow upon addition.
10. After thorough mixing, measure absorbance at 450 nm (reference wavelength 620 nm), using an ELISA reader. The colour is stable for 30 minutes.

9. CALCULATION OF RESULTS

1. Calculate the average optical density (OD 450 nm) for each set of reference standards or samples.
2. Construct a standard curve by plotting the mean optical density obtained for each reference standard against its concentration in ng/mL on semi-log graph paper with the optical density on the vertical (y) axis and the concentration on the horizontal (x) axis.
3. Using the mean optical density value for each sample, determine the corresponding concentration of streptomycin in ng/mL from the standard curve. Depending on experience and/or the availability of computer capability, other methods of data reduction may be employed.
4. The diluted samples must be further converted by the appropriate **sample dilution factor**. The factors are listed for each sample matrix in the sample preparation section.

Note: Due to matrix effects some negative samples may show a certain blank value. In validation experiments this was determined to be around 1-2 ng/mL. This value has to be considered as the limit of detection of the method.

10. TYPICAL STANDARD VALUES

The following table contains an example for a typical standard curve. The binding is calculated as percent of the absorption of the 0 ng/mL standard. These values are only an example and should not be used instead of the standard curve which has to be measured in every new test.

Streptomycin (ng/mL)	% binding of 0 ng/mL
0	100
2	73
5	53
20	33
50	14
200	7

11. PERFORMANCE**Sensitivity**

The sensitivity of the **Streptomycin ELISA** is 1 ng/mL (based on the standard curve).

Recovery

Honey	100 %
Shrimps	70 %
Meat	90 %
Liver	95 %
Milk	120 %
Whole egg	85 %

Intra-assay Precision

The intra-assay variation of the streptomycin test was determined to 6%.

Cross-reactivity

Cross-reactivity	relative to streptomycin (=100%)
Dihydrostreptomycin	70%
Gentamycin	< 0.001%
Neomycin	< 0.001%

12. REFERENCES

1. Suhren G, Knappstein K; Analyst. 1998 Dec;123(12): 2797-801: Detection of incurred dihydrostreptomycin residues in milk by liquid chromatography and preliminary confirmation methods.
2. Edder P, Cominoli A, Corvi C; J Chromatogr A. 1999 Jan 15; 830(2):345-51: Determination of streptomycin residues in food by solid-phase extraction and liquid chromatography with post-column derivatization and fluorometric detection.
3. Haasnoot W, Stouten P, Cazemier G, Lommen A, Nouws JF, Keukens HJ; Analyst. 124(3): 301 (1999): Immunochemical detection of aminoglycosides in milk and kidney.

Empfindlichkeit	1 ng/mL
Wiederfindung (aufgestockte Proben)	70-120 %
Inkubationszeit	60 min

1. ALLGEMEINES

Streptomycin besteht aus drei Strukturelementen, die durch Glycosidbindungen miteinander verknüpft sind und gehört zur Gruppe der Aminoglycosidantibiotika. Streptomycin wird von dem zur Klasse der Actinobakterien gehörenden *Streptomyces griseus* gebildet und richtet sich gegen gram-negative Bakterien und den Tuberkel-Bazillus. Therapeutisch wird Streptomycin zur Behandlung von entzündlichen Darmerkrankungen eingesetzt. Wegen seiner Nebenwirkungen (Schädigungen des Hörnervs, des Gleichgewichtssinns und der Nieren) wird es selten in der Humanmedizin angewandt, findet aber eine gewisse Verbreitung im veterinären Bereich. Nach der Behandlung von Mastitis säugender Muttertiere wurden erhöhte Streptomycinkonzentrationen in Leber, Nieren, Muskelgewebe und Milch gefunden. Die erlaubten Höchstmengen in diesen Fällen sind 500 µg/kg, 1000 µg/kg, 500 µg/kg und 200 µg/kg. Eine andere Anwendung des Antibiotikums unter dem Handelsnamen Plantomycin ist die Behandlung des sogenannten Feuerbrands von Obstbäumen. Um die Aufnahme durch den Menschen zu reduzieren, wurden in der Europäischen Union erlaubte Höchstmengen festgesetzt. Der deutsche Grenzwert für Streptomycin in Honig gemäß der Rückstands-Höchstmengenverordnung (RHmV) beträgt 20 µg/kg.

2. TESTPRINZIP

Der **Streptomycin Test** basiert auf dem Prinzip des Enzymimmunoassay (EIA). Ein gegen Maus-Immunglobuline gerichteter Antikörper ist auf der Oberfläche der Mikrotiterplatte gebunden. Darauf wird die Streptomycin enthaltende Probe bzw. Standards sowie ein Streptomycin-Antikörper in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte gegeben. Das Streptomycin der Probe/Standards bindet an den Antikörper, während dieser Komplex seinerseits mit dem anti-Maus-Antikörper auf der Platte reagiert. Nach einer dreißigminütigen Inkubation bei Raumtemperatur wird ohne vorheriges Waschen ein Streptomycin-Peroxidase Konjugat zur Absättigung unbesetzter Antikörperbindungsstellen hinzupipettiert. Nach weiteren 15 Minuten Inkubation wird die Platte mit verdünntem Waschpuffer gewaschen, um nichtgebundenes Material zu entfernen. Eine Substratlösung wird hinzupipettiert und 15 Minuten inkubiert, wodurch in den Vertiefungen ein blauer Farbstoff entwickelt wird. Die Farbentwicklung wird durch Zugabe einer Stopp-Lösung beendet, wobei ein Farbumschlag von blau nach gelb stattfindet. Die resultierende Farbe wird spektrophotometrisch bei 450 nm gemessen. Die Streptomycin-Konzentration ist der Intensität der Färbung umgekehrt proportional.

3. VORSICHTSMAßNAHMEN

Die volle Übereinstimmung mit den folgenden Regeln für eine gute Laborpraxis (GLP) wird zu vertrauenswürdigen Ergebnissen führen:

1. Vor der Testdurchführung müssen alle Reagenzien auf Raumtemperatur gebracht werden (20°C-25°C).
2. Alle Reagenzien sollten vor der Verwendung durch leichtes Kippen oder Schwenken gemischt werden. Die Erzeugung von Schaum sollte dabei vermieden werden.
3. Wenn mit der Testdurchführung einmal begonnen ist, sollten alle nachfolgenden Schritte ohne Unterbrechung und innerhalb der empfohlenen Zeitgrenzen vollzogen werden.
4. Unmittelbar nach Entnahme der Reagenzien sollten die Flaschen wieder mit ihren Stopfen verschlossen werden. Die Verschlüsse dürfen nicht verwechselt werden!
5. Für jede Probe muss eine separate Einmal-Pipettenspitze verwendet werden, um eine Verschleppung bzw. Kreuzkontamination zu vermeiden.
6. Alle Proben und Standards sollten gleichzeitig getestet werden, so dass die Bedingungen für alle identisch sind.
7. Komponenten von verschiedenen Chargen dürfen nicht verwendet oder gemischt werden.
8. Reagenzien dürfen nach der Verfallszeit nicht benutzt werden.
9. Es sollten ständig die Präzision und die Richtigkeit für die Laborgeräte kontrolliert werden, die man für das Testverfahren benutzt (Mikropipetten, Washer, ELISA-Reader, etc.).

4. GESUNDHEITS- UND SICHERHEITSVORSCHRIFTEN

1. Im Laboratorium darf nicht geraucht, gegessen und getrunken werden. Das Pipettieren mit dem Mund ist nicht zulässig.
2. Beim Einsatz von Proben menschlichen Ursprungs müssen Einmalhandschuhe getragen werden.
3. Der Kontakt der Stopp-Lösung mit Haut und Schleimhäuten sollte vermieden werden, da mögliche Reizungen, Verbrennungen oder Vergiftungsgefahr auftreten können. Sollte ein Kontakt entstehen, muss der betroffene Bereich mit ausreichend Wasser abgespült werden.
4. Die Handhabung und die Beseitigung von chemischen Produkten muss nach den Richtlinien für eine gute Laborpraxis (GLP) erfolgen.

5. REAGENZIEN

Der Kit enthält Reagenzien für 96 Bestimmungen. Sie müssen bei 2-8°C gelagert werden. Das Verfallsdatum ist auf jeder Komponente sowie auf der Verpackung angegeben.

1. **SORB** **MT** Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten (12 Streifen mit je 8 Vertiefungen, einzeln abbrechbar), beschichtet mit anti-Maus-Antikörper.
2. **CAL** **1** – **6** Streptomycin-Standards: 6 Fläschchen mit je 1 mL (0, 2, 5, 20, 50, 200 ng/mL), rot eingefärbt, gebrauchsfertig.
3. **Ab** Anti-Streptomycin Antikörper (Maus): 6 mL, rot eingefärbt, gebrauchsfertig.
4. **ENZ** **CONJ** Konjugat (Streptomycin-Peroxidase), 6 mL, rot eingefärbt, gebrauchsfertig.
5. **SUB** **TMB** Substratlösung (TMB), 15 mL, rot gefärbt, gebrauchsfertig.
6. **STOP** **SOLN** Stopp-Lösung (1 N saure Lösung), 15 mL, gebrauchsfertig.
7. **SAM** **DIL** Probenverdünner (PBS), 2 x 60 mL, rot eingefärbt, gebrauchsfertig.
8. **WASH** **SOLN** **10x** Waschlösung (PBS + Tween 20), 60 mL als 10x-Konzentrat. Gebrauchslösung: 1+9 mit dest. Wasser verdünnen. Falls bei der gekühlten Lagerung Kristalle ausfallen sollten, das Konzentrat 15 Minuten im Wasserbad (37°C) erwärmen.
9. Arbeitsanleitung.

6. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE GERÄTE UND REAGENZIEN

Geräte

- 50, 100, 500 und 1000 µL-Mikropipetten
- Mikrotiterplatten-Photometer (450 nm)
- Zentrifuge
- Ultra-Turrax, Mixer, Vortex
- Plastikfolien zur Abdeckung der Streifen während der Inkubation.
- Wiederverschließbarer Plastikbeutel für die Lagerung unbenutzter Streifen

Reagenzien

- Bidest. Wasser
- 0,01 M PBS (8,77g/L NaCl, 0,7 g/L NaH₂PO₄x2H₂O, 2,9 g/L Na₂HPO₄x2H₂O, pH 7,3)
- Extraktionspuffer (2,0 g Heptansulfonsäure Na-Salz, 1,9 g Na₃PO₄x12 H₂O ad 200 mL bidest. Wasser, mit o-Phosphorsäure auf pH 2,0 einstellen)
- Methanol (100%)
- Carrez I (150 g/L Kaliumhexacyanoferrat(II)-3-hydrat)
- Carrez II (300 g/L Zinksulfat-7-hydrat)

7. PROBENVORBEREITUNG

Honig (Screening-Methode)

- 2 g Honig in 10 mL bidest. Wasser lösen.
- Lösung 1:4 mit Probenverdünner weiter verdünnen und im Test einsetzen.
- Probenverdünnungsfaktor: F=20

Honig (Sensitive Methode; C18 SPE)

- 1 g Honig auf 10 mL mit Extraktionspuffer auffüllen und vollständig auflösen. Anschließend durch Zentrifugation (10 min bei 3000 g) klären.
- C18 SPE-Säule mit 2 mL Methanol (100%) und dann mit 2 mL bidest. Wasser spülen.
- 5 mL Probenextrakt langsam durch die Säule drücken (ca. 1 mL/min).
- Säule mit 3 mL bidest. Wasser spülen.
- Säule 2 Minuten durch Luft- oder Stickstoffstrom trocknen.
- 1 mL Methanol (100%) auf die Säule geben und Probe eluieren (ca. 1 mL/min).
- Eluat im Luft- oder Stickstoffstrom bei 50-60°C bis zur Trockne eindampfen.
- Rückstand in 2 mL Probenverdünner aufnehmen und im Test einsetzen.
- Probenverdünnungsfaktor: F=4

Shrimps

- Probe in einem geeigneten Gerät (z.B. Ultra-Turrax, Mixer) zerkleinern und homogenisieren.
- 1 g Probe mit 4 mL 0,01 M PBS mischen und 30 Minuten kräftig schütteln.
- 10 Minuten bei 3000 g zentrifugieren.
- Klaren Überstand 1:4 mit Probenverdünner verdünnen und im Test einsetzen.
- Probenverdünnungsfaktor: F=16

Fleisch

- Probe in einem geeigneten Gerät (z.B. Ultra-Turrax, Mixer) zerkleinern und homogenisieren.
- 1 g Probe mit 4 mL 0,01 M PBS mischen und 30 Minuten kräftig schütteln.
- 10 Minuten bei 3000 g zentrifugieren.
- Klaren Überstand 1:6 mit Probenverdünner verdünnen und im Test einsetzen.
- Probenverdünnungsfaktor: F=24

Leber

- Probe in einem geeigneten Gerät (z.B. Ultra-Turrax, Mixer) zerkleinern und homogenisieren.
- 1 g Probe mit 4 mL 0,01 M PBS mischen und 30 Minuten kräftig schütteln.
- 10 Minuten bei 3000 g zentrifugieren.
- Klaren Überstand 1:8 mit Probenverdünner verdünnen und im Test einsetzen.
- Probenverdünnungsfaktor: F=32

Milch

- Probe auf 2-8°C kühlen und 10 Minuten bei 3000 g zentrifugieren.
- Fettphase abtrennen oder durchstechen, Milch 1:8 mit Probenverdünner verdünnen und im Test einsetzen.
- Probenverdünnungsfaktor: F=8

Vollei, roh

- Probe in einem geeigneten Gerät (z.B. Ultra-Turrax, Mixer, Vortex) homogenisieren.
- Zu 5 mL Eiprobe 250 µL Carrez I zugeben, mischen und 250 µL Carrez II hinzufügen.
- Probe mischen und 10 Minuten bei 3000 g zentrifugieren.
- Überstand 1:15 mit Probenverdünner verdünnen und im Test einsetzen.
- Probenverdünnungsfaktor: F=16,5

8. TESTDURCHFÜHRUNG

1. Proben nach Vorschrift vorbereiten.
2. 100 µL Standards bzw. vorbehandelte Proben im Doppelansatz in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte geben. Sofort im Anschluss in jede Vertiefung 50 µL des anti-Streptomycin Antikörpers pipettieren.
3. Platte abdecken und 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
4. Ohne vorheriges Waschen 50 µL Streptomycin-Peroxidase Konjugat in jede Vertiefung zugeben.
5. Platte abdecken und weitere 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
6. Platte wie folgt dreimal waschen: Vertiefungen der Platte entleeren (auskippen oder absaugen) und 300 µL endverdünnte Waschlösung dazugeben. Nach der dritten Wiederholung Vertiefungen erneut leeren und Flüssigkeitsreste durch Ausschlagen der Mikrotiterplatte auf einem Papiertuch entfernen. Der Waschvorgang ist ein kritischer Schritt. Ungenügendes Waschen führt zu einer geringen Präzision und fälschlicherweise erhöhten Extinktionen.
7. 100 µL Substratlösung zugeben.
8. Platte abdecken und 15 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren.
9. Substratreaktion durch Zugabe von 100 µL Stopp-Lösung (1 N saure Lösung) beenden.
10. Nach sorgfältigem Mischen erfolgt die Messung der Extinktion bei 450 nm (eventuell Referenzwellenlänge 620 nm). Die Farbe ist maximal 30 Minuten stabil.

9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

1. Für jede Probe bzw. jeden Standard wird die gemittelte Extinktion berechnet.
2. Aus den gemittelten Werten der Standardreihe wird graphisch auf halblogarithmischem Millimeterpapier oder über ein EDV-Programm eine Eichkurve erstellt. Die Extinktion jedes Standards (y-Achse) wird gegen die Konzentration in ng/mL (x-Achse) aufgetragen.
3. Mit Hilfe dieser Kurve wird für die gemittelten Extinktionen der Proben der Wert in ng/mL für Streptomycin abgelesen.
4. Um die in einer Probe tatsächlich enthaltene Konzentration zu errechnen, muss der aus der Eichkurve abgelesene Wert noch mit einem entsprechenden Verdünnungsfaktor, der sich aus der Probenvorbereitung ergibt, multipliziert werden. Die jeweiligen Verdünnungsfaktoren sind unter dem Punkt Probenvorbereitung aufgeführt.

Anmerkung: Bedingt durch Matrixeffekte können negative Proben einen geringen Hintergrundwert aufweisen. Bei Validierungsexperimenten wurde dieser bei ca. 1-2 ng/mL gemessen. Dieser Wert muss als Nachweisgrenze der Methode betrachtet werden.

10. TYPISCHE STANDARDKURVE

Die folgende Tabelle enthält ein Beispiel für eine Standardreihe. Die Extinktionen sind in Prozent der Extinktion des 0 ng/mL-Standards angegeben. Die Werte dieser Standardkurve sind nur als Beispiel bestimmt und dürfen nicht an Stelle der in jedem Test neu zu erstellenden Kurve verwendet werden.

Streptomycin (ng/mL)	OD-% von 0 ng/mL
0	100
2	73
5	53
20	33
50	14
200	7

11. TECHNISCHE DATEN**Empfindlichkeit**

Die mittlere untere Nachweisgrenze des **Streptomycin Tests** beträgt 1 ng/mL bezogen auf die Standardkurve.

Wiederfindung

Honig	100 %
Shrimps	70 %
Fleisch	90 %
Leber	95 %
Milch	120 %
Vollei	85 %

Intraassay-Präzision

Der Intraassay-Variationskoeffizient des Streptomycin-Tests wurde mit 6% bestimmt.






Kreuzreaktionen

Kreuzreaktionen	relativ zu Streptomycin (=100%)
Dihydrostreptomycin	70 %
Gentamycin	< 0,001 %
Neomycin	< 0,001 %

12. LITERATUR

1. Suhren G, Knappstein K; Analyst. 1998 Dec;123(12): 2797-801: Detection of incurred dihydrostreptomycin residues in milk by liquid chromatography and preliminary confirmation methods.
2. Edder P, Cominoli A, Corvi C; J Chromatogr A. 1999 Jan 15; 830(2):345-51: Determination of streptomycin residues in food by solid-phase extraction and liquid chromatography with post-column derivatization and fluorometric detection.
3. Haasnoot W, Stouten P, Cazemier G, Lommen A, Nouws JF, Keukens HJ; Analyst. 124(3): 301 (1999): Immunochemical detection of aminoglycosides in milk and kidney.

SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS

Symbol	English	Deutsch	Français	Espanol	Italiano
	European Conformity	CE-Konformitäts-kennzeichnung	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las Instrucciones	Consultare le istruzioni per l'uso
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	Usage Diagnostic in vitro	Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Référence	Número de catálogo	No. di Cat.
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	No. de lot	Número de lote	Lotto no
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Note warnings and precautions	Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen beachten	Avertissements et mesures de précaution font attention	Tiene en cuenta advertencias y precauciones	Annoti avvisi e le precauzioni
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Temperature de conservation	Temperatura de conservacion	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributor	Vertreiber	Distributeur	Distribuidor	Distributore



Distributed By:
 IBL-America
 8201 Central Ave NE Suite P
 Minneapolis, MN 55432
 Ph: (888) 523-1246
 Email: info@ibl-america.com
 www.IBL-America.com