

# I'screen CAP v2

## Xét nghiệm miễn dịch enzyme để phát hiện chloramphenicol (Cat.nr. HU0050002)

**I'screen CAP v2** là một bộ kit hoạt động theo cơ chế xét nghiệm miễn dịch cạnh tranh để phân tích định lượng chloramphenicol.

Bộ kit này chứa đủ các thành phần cho 96 phản ứng, bao gồm cả các chất chuẩn. Để đánh giá kết quả, cần có máy đọc đĩa microtiter hoặc đọc strip microtiter (máy đọc ELISA thủ công hoặc tự động).

### Nền mẫu phân tích

Mô và hải sản, nước tiểu, trứng, huyết thanh, huyết tương, mật ong và nước.

Sản phẩm ELISA này không nhằm mục đích sử dụng để kiểm tra bất kỳ loại mẫu nào trên người.

### Chuẩn bị mẫu:

- Nước: điều chỉnh pH, pha loãng (tùy chọn)
- Nước tiểu (phương pháp I): ly tâm, pha loãng
- Nước tiểu (phương pháp II): Điều chỉnh pH, thủy phân bằng enzym, chiết bằng ethylacetat, bay hơi, hoàn nguyên.
- Huyết thanh và huyết tương: chiết bằng ethylacetat, ly tâm, bay hơi, hoàn nguyên..
- Trứng, mô và thủy sản: đồng nhất, chiết xuất bằng dung môi, ly tâm, bay hơi, hoàn nguyên.
- Mật ong: pha loãng, chiết bằng ethylacetat, ly tâm, bay hơi, hoàn nguyên.

### Thời gian thử nghiệm: 45 phút

(không bao gồm thời gian chuẩn bị mẫu).

### Giới hạn phát hiện:

- Huyết thanh, huyết tương, nước:** 0.1 ppb
- Nước tiểu (phương pháp I):** 10 ppb
- Nước tiểu (phương pháp II):** 0.1 ppb
- Mật ong, trứng:** 0.05 ppb
- Thịt bắp, hải sản:** 0.025 ppb

### Tính đặc hiệu

Hợp chất	Phản ứng chéo
Chloramphenicol (CAP)	100%
CAP glucuronide	70%
Florfenicol	< 0.1%
Tiamphenicol	< 0.1%

## 1. NGUYÊN TẮC THỬ NGHIỆM

Thử nghiệm được thực hiện trong các giếng của đĩa microtiter nhựa đã được phủ bằng các kháng thể anti-sheep. Các dung dịch hoặc mẫu chuẩn chloramphenicol, phức hợp enzym chloramphenicol-HRP và một kháng thể anti-chloramphenicol đặc hiệu được thêm vào giếng.

Trong quá trình ủ, các phân tử **chloramphenicol tự do và chloramphenicol-HRP** sẽ cạnh tranh để giành các vị trí liên kết với kháng thể **anti-chloramphenicol**. Kháng thể anti-chloramphenicol được liên kết

đồng thời với pha rắn. Sau đó các chất không liên kết sẽ được loại bỏ trong bước rửa. Hoạt tính của enzym liên kết được xác định bằng cách thêm một lượng cơ chất tạo màu. Enzyme sẽ từ không màu thành sản phẩm màu xanh lam trong lần ủ thứ hai.

Khi thêm thuốc thử dừng phản ứng, dung dịch sẽ chuyển màu từ xanh lam sang vàng.

Độ hấp thụ được đo máy đọc đĩa ở **bước sóng 450nm**.

Tín hiệu màu sẽ tỷ lệ nghịch với nồng độ chloramphenicol trong mẫu.

## 2. THÀNH PHẦN CUNG CẤP

**Đĩa Microtiter:** 96 giếng (12 strip x 8 giếng, có thể tách rời), được phủ bởi anti-sheep IgG.

Có thể bẻ các strip ra để sử dụng các giếng riêng lẻ.

**Chuẩn Chloramphenicol:** 6 ống nhựa, mỗi ống chứa 1,5 ml dung dịch chuẩn theo nồng độ: 0 ng/ml; 0.1 ng/ml; 0.2 ng/ml; 0.5 ng/ml; 1 ng/ml; 2 ng/ml.

**Dung dịch CAP spike:** 1 ống 1 ml chloramphenicol 100 ng/ml.

**Phức hợp Enzyme:** 1 ống 0.2 ml phức hợp enzyme cô đặc.

**Dung dịch pha loãng phức hợp Enzyme:** 1 ống 12 ml, màu đỏ.

**Kháng thể Anti-chloramphenicol:** 1 ống 12 ml, màu xanh.

**Buffer pha loãng 5x:** 1 chai 50 ml.

**Buffer rửa 10X:** 1 chai 50 ml.

**Cơ chất tạo màu:** 1 chai 24 ml.

**Dung dịch dừng phản ứng:** 1 chai 8 ml. Nắp trắng.

## 3. THÀNH PHẦN YÊU CẦU NHƯNG KHÔNG ĐƯỢC CUNG CẤP

- Nước cất.
- Ethylacetate (dùng cho tất cả nền mẫu, ngoại trừ nước tiểu, phương pháp I).
- Hexane (cho thịt bắp, hải sản và có thể cho trứng).
- Acetic acid (dùng cho nước tiểu, phương pháp II).
- Helix pomatia juice (dùng cho nước tiểu, phương pháp II).
- Isooctane/chloroform (dùng cho trứng).

### Thiết bị:

- Máy Vortex.
- Máy đồng hóa.
- Cân phân tích.
- Máy ly tâm.
- Bể ủ nhiệt.
- Máy cô mẫu.
- Máy đo pH.
- Micropipette 20-200 µl, đầu côn.
- Micropipette đa kênh 50-250 µl, đầu côn.
- Máy đọc đĩa microplate, bước sóng 450nm.

#### 4. CẢNH BÁO VÀ THẬN TRỌNG ĐỐI VỚI NGƯỜI DÙNG

- Thử nghiệm này chỉ dùng cho chuẩn đoán in vitro.
- Thử nghiệm này nhằm mục đích sàng lọc các mẫu có nguồn gốc động vật (không có nguồn gốc từ con người) và không phải là thử nghiệm IVD để sử dụng cho con người.
- Một số thuốc thử chứa các dung dịch có thể được xác định là chất nguy hiểm theo Quy định (EC) N° 1272/2008.
- Vui lòng tham khảo Bảng dữ liệu an toàn vật liệu có sẵn trên trang web **Eurofins Technologies và Eurofins Tecna** ([tecna.eurofins-technologies.com](http://tecna.eurofins-technologies.com)).
- Xử lý thuốc thử một cách thận trọng, tránh tiếp xúc với da, mắt và niêm mạc.

#### 5. HƯỚNG DẪN XỬ LÝ VÀ BẢO QUẢN

- Bảo quản ở +2/+8°C và không được đông lạnh.
- Để tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng (ít nhất 1 giờ). **CHÚ Ý:** không mở nắp đĩa microplate cho đến khi đĩa đạt đến nhiệt độ phòng.
- Bảo quản các strip không sử dụng trong túi nhôm cùng với túi hút ẩm được cung cấp.
- Đưa tất cả thuốc thử về +2/+8°C ngay sau khi sử dụng.
- Không sử dụng các thành phần đã hết hạn.
- Không trộn các thành phần bộ kit từ các lô khác nhau.
- Không sử dụng bản sao của sách hướng dẫn. Thực hiện theo tài liệu hướng dẫn ban đầu đi kèm với bộ kit.
- Đặc biệt, không thay đổi quy trình thử nghiệm:**
  - Không kéo dài thời gian ủ,
  - Không ủ đĩa ở nhiệt độ cao hơn 25°C,
  - Không lắc đĩa trong quá trình ủ.
- Sử dụng các micropipet đã được hiệu chuẩn và đầu côn phù hợp khi thực hiện.
- Sau khi bắt đầu, hãy hoàn thành tất cả các bước mà không bị gián đoạn.
- Khả năng lặp kết quả ELISA phụ thuộc phần lớn vào hiệu quả và tính đồng nhất của quá trình rửa; luôn tuân thủ quy trình được hướng dẫn.
- Sử dụng một đầu côn dùng một lần cho từng dung dịch và mẫu chuẩn để tránh nhiễm chéo.
- Không để các đầu côn tiếp xúc với chất lỏng đã có trong giếng.
- Tránh tiếp xúc với ánh sáng trực tiếp trong khi ủ. Nên đậy đĩa tấm microtiter khi thực hiện.

#### 6. CHUẨN BỊ MẪU

##### 6.1 Mẫu huyết thanh và huyết tương

- Thêm 2 ml ethylacetat vào 1 ml huyết thanh/huyết tương.
- Vortex trong 1 phút.
- Ly tâm 10 phút ở 2000 g.
- Chuyển 1 ml lớp nổi trên (ethylacetate) vào ống thủy tinh và cô mẫu ở 50°C dưới luồng khí chậm hoặc dòng nitơ.
- Hòa tan tiếp trong 500 µl dung dịch đệm pha loãng 1X.
- Hệ số pha loãng là 1.

##### 6.1 Nước

- Thêm 2 ml ethylacetat vào 1 ml huyết thanh/huyết tương.

- Pha loãng 5x (1 + 4) với dung dịch đệm pha loãng 1X cho khoảng liều 0,5-10 ppb.
- Pha loãng 10x (1 + 9) với dung dịch đệm pha loãng 1X cho khoảng liều 1-20 ppb.

##### 6.3 Trứng

- Cân 4 g mẫu đã đồng nhất vào ống.
- Thêm 6 ml etylaxetat và lắc kỹ trong 10 phút.
- Ly tâm 10 phút ở 2000 g.
- Chuyển 3 ml etylaxetat vào ống thủy tinh và cô mẫu ở 50°C dưới luồng khí chậm hoặc dòng nitơ.
- Hòa tan tiếp trong 1,5 ml isoctan/chloroform (2:3; v:v), thêm 1 ml dung dịch đệm pha loãng 1x. Vortex trong 1 phút hoặc trộn trên mâm quay trong 30 phút.
- Ly tâm trong 10 phút ở 2000 g.
- Đổ ống mẫu trong bể ủ nhiệt ở 80°C trong 5 phút để loại bỏ lớp nhũ tương ở trên.
- Ly tâm trong 10 phút ở 2000 g.
- Lớp trên đã sẵn sàng để sử dụng.
- Hệ số pha loãng là 0,5.

##### Cách khác (từ bước 4):

- Hòa tan mẫu đã cô đặc trong 1,5 ml hexan
- Thêm 1 ml dung dịch đệm pha loãng 1x. Vortex trong 1 phút hoặc trộn trên mâm quay trong 30 phút.
- Ly tâm trong 10 phút ở 2000 g.
- Đổ ống mẫu trong bể ủ nhiệt ở 80°C trong 5 phút để loại bỏ lớp nhũ tương ở trên.
- Ly tâm trong 10 phút ở 2000 g.
- Lớp dưới đã sẵn sàng để sử dụng.
- Hệ số pha loãng là 0,5.

##### 6.4 Mật ong

- Cân 2 g mẫu trong ống nghiệm
- Thêm 4 ml nước cất.
- Làm ấm mẫu đã pha loãng đến 60°C trong vài phút.
- Thêm 4 ml etyl acetate và lắc kỹ trong 10 phút.
- Ly tâm trong 10 phút ở 2000 g.
- Cô đặc 2 ml of ethyl acetate (pha ở trên) trong ống thủy tinh ở 50°C dưới không khí chậm hoặc dòng nitơ.
- Hòa tan tiếp trong 500 µl dung dịch đệm pha loãng 1x.
- Hệ số pha loãng là 0,5.

##### 6.5 Thịt bắp và hải sản

- Xay mịn mẫu.
- Cân 4 g mẫu đã đồng nhất.
- Thêm 6 ml ethylacetate và lắc kỹ trong 10 phút.
- Ly tâm trong 10 phút ở 2000 g.
- Chuyển 3 ml ethylacetate trong ống thủy tinh và cô mẫu ở 50°C dưới luồng khí chậm hoặc dòng nitơ.
- Hòa tan tiếp trong 1 ml hexan.
- Thêm 500 µl dung dịch đệm pha loãng 1x. Vortex trong 1 phút.
- Ly tâm trong 10 phút ở 2000 g.
- Đặt ống trong bể ủ nhiệt ở 80°C trong 5 phút để loại bỏ nhũ tương trong bề mặt.
- Ly tâm trong 10 phút ở 2000 g.
- Loại bỏ lớp trên và bề mặt.
- Lớp dưới đã sẵn sàng để sử dụng.
- Hệ số pha loãng là 0,25.

## 6.6 Nước tiểu

### Phương pháp I:

- 1) Ly tâm mẫu trong 5 phút ở 2000g.
- 2) Pha loãng phần nổi phía trên 1:100 với dung dịch đệm pha loãng 1x.
- 3) Hệ số pha loãng là 100.

### Phương pháp II:

- 1) Thu thập 1 ml mẫu nước tiểu
- 2) Giá trị pH được điều chỉnh đến 4,8 bằng cách thêm vài giọt axit axetic 1M.
- 3) Thêm 25 µl Helix Pomatia juice.
- 4) Ủ trong 2 giờ ở 55°C hoặc qua đêm ở 37°C.
- 5) Điều chỉnh giá trị pH thành 7±0.5.
- 6) Thêm 2 ml ethylacetate và vortex trong 1 phút.
- 7) Ly tâm trong 10 phút ở 2000g.
- 8) Chuyển 1 ml lớp trên (ethylacetate) trong ống thủy tinh và cô mẫu ở 50°C dưới luồng khí chậm hoặc dòng nitơ.
- 9) Hòa tan cặn trong 500 µl dung dịch đệm pha loãng 1x.
- 10) Hệ số pha loãng là 1.

## 7. CHUẨN BỊ DUNG DỊCH

**Chuẩn Chloramphenicol:** Sử dụng ngay.

**Dung dịch pha loãng phức hợp Enzyme:** Sử dụng ngay.

**Phức hợp Enzyme: CHÚ Ý:** Để thu hồi tất cả dung dịch, trước khi sử dụng, hãy ly tâm trong vài giây ở tốc độ thấp (spin-down). Tính toán và chuẩn bị lượng cần thiết cho lần thực hiện. Pha loãng phức hợp tỉ lệ **1/200** trong dung dịch pha loãng enzym.

**CHÚ Ý:** Thực hiện hai lần pha loãng liên tiếp để không lấy ít hơn 20 µl phức hợp enzyme đậm đặc.

**Ví dụ:** Chuẩn bị 1/200 dung dịch bán đậm đặc (lấy 20 µl phức hợp enzyme đậm đặc + 380 µl dịch pha loãng enzym) và chuẩn bị phức hợp sẵn sàng sử dụng bằng cách pha loãng 1/10 dung dịch bán đậm đặc (lấy 200 µl phức hợp bán đậm đặc + 1800 µl chất pha loãng enzym). Lắc nhẹ

### KHÔNG ĐƯỢC VORTEX

Kháng thể Anti-chloramphenicol: Sử dụng ngay

**Buffer pha loãng 5x:** pha loãng 1: 5 (1 + 4) với nước cất.

**Buffer rửa:** pha loãng 1:10 (1 + 9) với nước cất.

**CHÚ Ý:** khi thấy xuất hiện các tinh thể, ổn định dung dịch ở nhiệt độ phòng và khuấy để hòa tan hoàn toàn..

Dung dịch đệm rửa đã pha loãng sẽ ổn định ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ và ở + 2/+8°C trong hai tuần.

**Cơ chất tạo màu:** sử dụng ngay; dung dịch này nhạy cảm với ánh sáng; tránh xa ánh sáng trực tiếp.

**Dung dịch dùng phản ứng:** sử dụng ngay. **CHÚ Ý:** nó chứa sulphuric acid 1M. Xử lý cẩn thận; trong trường hợp tiếp xúc, rửa ngay với nhiều nước.

## 8. ASSAY PROCEDURE

- 1) Xác định trước bố cục thử nghiệm, ghi lại vị trí chuẩn và mẫu,
- 2) Tính toán đến việc tất cả đều phải chạy lặp lại.

### Ủ lần đầu

- Thêm 50 µl của mỗi chất chuẩn/mẫu vào các giếng tương ứng.
- Sử dụng pipet đa kênh, thêm 50 µl phức hợp enzym vào mỗi giếng.
- Sử dụng pipet đa kênh, thêm 100 µl kháng thể vào mỗi giếng

- Lắc nhẹ đĩa theo chuyển động quay trong vài giây
- Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng.
- Không kéo dài thời gian ủ lần đầu tiên và không sử dụng máy lắc tự động.

### 3) Rửa

- Loại bỏ chất lỏng ra khỏi giếng.
- Làm đầy hoàn toàn tất cả các giếng bằng dung dịch rửa làm việc bằng cách sử dụng bình bóp. Loại chất lỏng ra khỏi giếng.
- Lặp lại trình tự rửa bốn (4) lần.
- Loại bỏ các giọt còn lại bằng cách gõ ngược đĩa microplate vào giấy thấm.

### Không để giếng bị khô.

- 4) Phản ứng tạo màu
  - Sử dụng pipet đa kênh, thêm 200 µl dung dịch tạo màu vào mỗi giếng.
  - Trộn kỹ với chuyển động quay trong vài giây.
  - Ủ trong 15 phút ở nhiệt độ phòng.
- 5) Sử dụng pipet nhiều kênh, thêm 50 µl dung dịch dừng vào mỗi giếng và trộn kỹ bằng chuyển động quay trong vài giây.
- 6) Đo độ hấp thụ tại 450 nm.
- 7) Đọc kết quả trong vòng 30 phút

## 9. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ

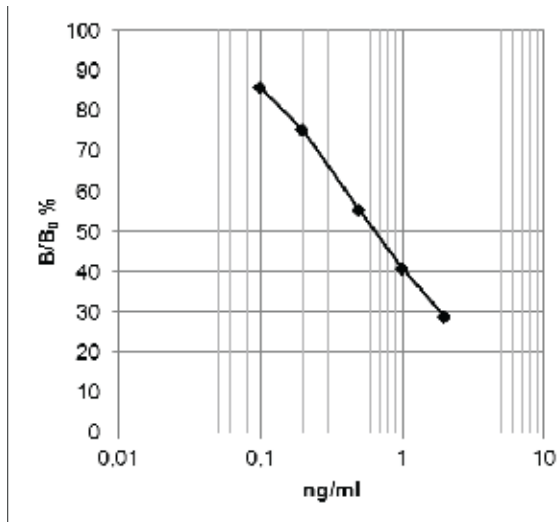
- Tính toán độ hấp thụ trung bình của từng đối chứng, chất chuẩn và mẫu.
- Chia giá trị độ hấp thụ trung bình của từng chất chuẩn và mẫu cho độ hấp thụ trung bình của chất chuẩn 0 rồi nhân với 100. Do đó, chuẩn 0 bằng 100% và tất cả các giá trị độ hấp thụ khác được biểu thị bằng phần trăm:

$$\frac{\text{Độ hấp thụ của chất chuẩn (hoặc mẫu)}}{\text{Độ hấp thụ của chuẩn 0 (B}_0\text{)}} \times 100 = \frac{B}{B_0} (\%)$$

- Nhập các giá trị B/B<sub>0</sub> được tính cho mỗi chuẩn trong hệ tọa độ semi-logarithmic và vẽ đường chuẩn.
- Tính giá trị B/B<sub>0</sub> của mỗi mẫu thành nồng độ tương ứng từ đường chuẩn.
- Tính nồng độ chloramphenicol trong mẫu bằng cách nhân nồng độ đọc được trên đường cong cho hệ số pha loãng.

**Xin lưu ý:** Để tính toán kết quả, bảng tính Excel được cung cấp sẵn trên trang web của [Eurofins Tecna tecna.eurofins-Technology.com](http://Eurofins Tecna tecna.eurofins-Technology.com) và có thể được tải xuống trực tiếp từ cuối trang sản phẩm.

## 10. VÍ DỤ



## 11. ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ

Sau khi xử lý kết quả, cần xác minh hiệu quả thử nghiệm. Việc xác minh được thực hiện bằng cách so sánh dữ liệu thu được với dữ liệu được cung cấp trong thông số kỹ thuật của bộ kit (**xem chương 12**).

Nếu các giá trị nằm ngoài thông số kỹ thuật đã cho, thì kết quả của phép thử không được đảm bảo, do đó mức nồng độ chloramphenicol trong mẫu có thể không hợp lệ.

Trong những trường hợp này, nên kiểm tra thời hạn sử dụng của bộ kit, bước sóng đọc kết quả, cũng như quy trình thực hiện.

Nếu nguyên nhân được xác định không phải lỗi vận hành, hãy liên hệ với bộ phận hỗ trợ kỹ thuật của chúng tôi.

**CẢNH BÁO:** Những bộ kit được trả chỉ khi còn nguyên bao bì gốc.

Bộ kit phải được bảo quản trong bao bì của nó ở +2/+8°C.

## 12. THÔNG SỐ KỸ THUẬT

### 12.1 Đặc điểm kỹ thuật thử nghiệm

Mô tả	Thông số
Độ hấp thụ B <sub>0</sub> trung bình	≥ 0.7 OD <sub>450nm</sub>
B/B <sub>0</sub> 50 %	0.3 – 1.2 ng/ml
C.V. trung bình lặp lại chuẩn	≤ 6 %

### 12.2 Hiệu quả thử nghiệm

Hiệu quả của bộ kit được trình bày ở đây là từ sự xác nhận nội bộ; Khả năng phát hiện (CCβ) được tính toán theo yêu cầu của Quyết định **657/2002** của EU.

### Độ thu hồi (%)

Tôm (at 0.1 ppb of CAP)	115 ± 30
Nước tiểu, phương pháp I (at 20 ppb of CAP)	106 ± 11
Các kết quả thu được bằng cách xây dựng <b>"4 tham số"</b> của đường chuẩn curve	
Khả năng phát hiện hoặc CCβ	
Chất phân tích	Tôm
CAP	0.1

## 13. TRÁCH NHIỆM PHÁP LÝ

Các mẫu được đánh giá là dương tính khi sử dụng bộ kit phải được kiểm tra lại bằng các phương pháp xác nhận.

Eurofins Technologies Hungary sẽ không chịu trách nhiệm đối với bất kỳ thiệt hại nào đối với khách hàng do sử dụng không đúng bộ kit và đối với bất kỳ hành động nào được thực hiện do hậu quả của kết quả.

**Eurofins Technologies Hungary** sẽ không chịu trách nhiệm về việc sử dụng không an toàn bộ dụng cụ theo các quy định an toàn hiện hành của Châu Âu.



Phân phối  
Ủy quyền



eurofins

Technologies

Xem thêm sản phẩm tại: [vitechltd.vn/vn/san-pham.html](http://vitechltd.vn/vn/san-pham.html)

## CÔNG TY TNHH PHÁT TRIỂN KHOA HỌC VITECH

### VĂN PHÒNG HÀ NỘI

Số 6 Lô 1D Khu Đô thị Trung Yên Trung Hòa, Cầu Giấy, Hà Nội  
(024) 3783.5922 | [info@vitechltd.vn](mailto:info@vitechltd.vn)

### VĂN PHÒNG HỒ CHÍ MINH

96 Hoa Lan, Phường 2, Quận Phú Nhuận, Thành phố Hồ Chí Minh  
(028) 3517.0468 | [infosg@vitechltd.vn](mailto:infosg@vitechltd.vn)

[www.vitechltd.vn](http://www.vitechltd.vn)