

Product information

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



User's Manual

Quinolones ELISA

Enzyme immunoassay for the rapid quantitative determination of Quinolones in food



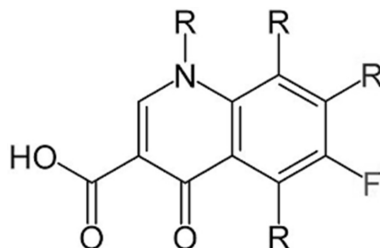
DEQUIE01



96 wells

Sensitivity	0.13 ng/mL
Recovery (spiked samples)	88 - 98%
Incubation Time	45 min

1. GENERAL INFORMATION



Quinolones belong to the group of antibiotics. The first identified quinolone, Nalidixic Acid, was discovered as a semi-finished product of the chloroquine synthesis in the year 1962. In the following years many other quinolones were synthesized, characterized and placed on the market. Especially the first fluorinated Norfloxacin represented a breakthrough showing much better pharmacologic properties. Amongst the quinolones Ciprofloxacin actually presents one of the most famous products. Quinolones lead to a ternary complex of the bacterial DNA and their topoisomerase enzymes resulting in cell death of the bacteria. In many countries quinolones are accepted in food production. Since the ingestion of quinolones presents a potential risk to the consumer the maximum amount of quinolone residues in food is regulated in most countries. For example in the EU Regulation No 37/2010 the maximum residue limits for the different quinolones are defined between 30 and 400 µg/kg (ppb) depending on type of matrix and type of quinolone. Thus a monitoring of food with respect to the concentration of quinolones is obligatory.

The **Quinolones ELISA** represents a highly sensitive detection system and is particularly capable of the rapid quantification of quinolone contaminations in milk, serum, egg, honey, shrimps, fish, meat and liver.

2. PRINCIPLE OF THE TEST

The **Quinolones** quantitative test is based on the principle of the enzyme-linked immunosorbent assay. An antibody directed against quinolones is coated on the surface of a microtiter plate. Quinolones containing samples or standards and a quinolone-peroxidase conjugate are given into the wells of the microtiter plate. The conjugate competes with the quinolones of the samples/standards for the limited number of antibody sites. After 30 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 quinolones 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 (micropipettes, ELISA reader etc.).

4. HEALTH AND SAFETY INSTRUCTIONS

1. Do not smoke or eat or drink or pipet by mouth in the laboratory.
2. 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.
3. 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-quinolone antibody.
2. **CAL 1 – 6** Ciprofloxacin Standards (0; 0.4; 1; 4; 10; 40 ng/mL): 6 vials with 1 mL each, dyed red, ready-to-use.
3. **ENZ CONJ** Conjugate (Quinolone-Peroxidase): 15 mL, dyed red, ready-to-use.
4. **SUB TMB** Substrate Solution (TMB): 15 mL, ready-to-use.
5. **STOP SOLN** Stop Solution (0.5 M H₂SO₄): 15 mL, ready-to-use.
6. **SAM DIL 5x** Sample Buffer (PBS): 120 mL as 5x concentrate, dyed red. Dilute 1+4 with distilled water. Stored at 4°C the diluted buffer is stable for at least one week. If during the cold storage crystals precipitate, the concentrate should be warmed up to 37°C for 15 minutes.
7. **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.
8. Instruction Manual.

6. ADDITIONAL INSTRUMENTATION AND REAGENTS (NOT PROVIDED)

Instrumentation

- 50 - 1000 μ L micropipets
- Volumetric flask
- Analytical balance
- Mortar, mixer
- Centrifuge
- ELISA reader (450 nm)
- Water bath
- Plastic bag to store unused microtiter strips.

Reagents

- Double distilled water
- Methanol
- quinolones extraction buffer:
Dilute 70% methanol (v/v) 1:2 (1+1) with **pre-diluted** sample buffer

7. SAMPLE PREPARATION

Honey

- 1 g of honey is suspended in 5 mL of 70% methanol (v/v).
- Mix suspension for 5 minutes at room temperature.
- Filter through Whatman #1 filter or alternatively centrifuge at a minimum of 3000 g for 15 minutes.
- Dilute 500 μ L of filtrate/supernatant with 500 μ L of **pre-diluted** sample buffer and test the sample in the ELISA.
Dilution factor = 10

Milk / Serum / Other liquid samples

- Defat milk if applicable. Therefore the milk has to be centrifuged for 15 min at 4°C and at least 2000 g. Afterwards the upper fat layer should be removed.
- Dilute 1 mL of previously defatted milk or any other liquid sample in 9 mL of quinolones extraction buffer.
- Mix suspension for 5 minutes at room temperature.
- Filter through Whatman #1 filter or alternatively centrifuge at a minimum of 3000 g for 15 minutes. For a better separation of fat the centrifuge should be cooled to 4°C if applicable.
- Apply the filtrate / supernatant in the ELISA.
Dilution factor = 10

All other solid samples

- To maximize homogeneity and representativeness of the sample drawing, a minimum of 5 g sample should be pulverized finely in a mortar, impact mill etc.
- 1 g of the homogenized mixture is suspended in 10 mL of quinolones extraction buffer.
- Mix suspension for 5 minutes at room temperature.
- Filter through Whatman #1 filter or alternatively centrifuge at a minimum of 3000 g for 15 minutes. For a better separation of fat the centrifuge should be cooled to 4°C if applicable.
- Apply the filtrate / supernatant in the ELISA.
Dilution factor = 10

In case of too highly concentrated samples the sample extracts have to be further diluted with quinolones extraction buffer.

8. PROCEDURE

1. Prepare samples as described above.
2. Pipet 50 µL standards or prepared samples in duplicate into the appropriate wells of the microtiter plate.
3. Add 100 µL of quinolone-peroxidase conjugate into each well.
4. Incubate for 30 minutes at room temperature.
5. 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 absorbances.
6. Pipet 100 µL of substrate solution into each well.
7. Allow the reaction to develop in the dark (e.g. cupboard or drawer; the chromogen is light-sensitive) for 15 minutes at room temperature.
8. Stop enzyme reaction by adding 100 µL of stop solution (0.5 M H₂SO₄) into each well. The blue colour will turn yellow upon addition.
9. 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. Alternatively the evaluation can be carried out by software. In this case the 4-parameter method should be preferred.
3. The diluted samples must be further converted by the appropriate **sample dilution factor** for calculating the sample concentration in ppb. The factors for each sample matrix are listed in the sample preparation section.

Example:

A honey sample prepared as described above results in 1.2 ng/mL. The concentration of the sample is calculated as follows:

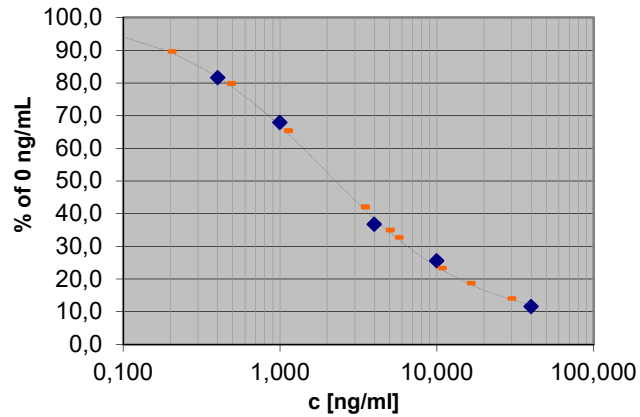
$$C_{\text{sample}} = 1.2 \text{ (ng/mL)} * 10 \text{ (ppb*ml/ng)} = 12 \text{ ppb}$$

Additional dilution due to high sample concentration has to be accounted for.

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 each new test.

Ciprofloxacin (ng/mL)	% binding of 0 ng/mL
0	100
0.4	81
1.0	67
4.0	37
10	25
40	11



11. PERFORMANCE

Sensitivity

The limit of detection (LOD) of the **Quinolones test** is 0.13 ng/mL for the standard curve.

The limit of quantification (LOQ) of the **Quinolones test** is 0.42 ng/mL for the standard curve.

Validation experiments with common matrices resulted in the following LODs and LOQs [ppb].

Matrix	LOD	LOQ
Honey	1.6	4.0
Milk	1.5	5.6
Serum	1.2	4.1
Egg	2.2	5.0
Meat	1.5	5.1
Liver	2.2	4.3
Shrimps	2.8	5.8
Fish	1.2	5.0

Recovery

Honey	93%
Milk	96%
Serum	88%
Egg	92%
Meat	94%
Liver	98%
Shrimps	93%
Fish	92%

Linearity

The serial dilution of spiked matrices (as seen in the table Recovery) resulted in a dilution linearity of 71-92%.

Precision

Intra-assay Precision	4.3%
Inter-assay Precision	11.2%

Reactivity

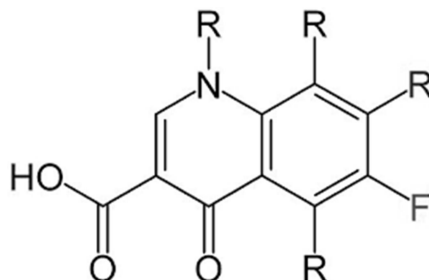
Clinafloxacin	159%
Gemifloxacin mesylate	133%
Danofloxacin	120%
Enrofloxacin	100%
Ciprofloxacin	100%
Moxifloxacin	61%
Norfloxacin	53%
Flumequine	29%
Levofloxacin	20%
Oxolinic acid	10%
Ofloxacin	10%
Marbofloxacin	5%

12. REFERENCES

1. Zhang, et al. (2011) – Development of an indirect competitive ELISA for simultaneous detection of enrofloxacin and ciprofloxacin. *J Zhejiang Univ-Sci B*, 12(11):884-891
2. Sijun Zhao, et al. (2009) – Developing and optimizing an immunoaffinity cleanup technique for determination of quinolones from chicken muscle. *J Agric Food Chem*, 57:365-371
3. Wei Sheng, et al. (2009) – Determination of marbofloxacin residues in beef and pork with an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Agric Food Chem*, 57:5971-5975
4. Chengbiao Zhao, et al. (2007) – Preparation of anti-gatifloxacin antibody and development of an indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of gatifloxacin residue in milk. *J Agric Food Chem*, 55:6879-6884
5. Shengxin Lz, et al. (2006) – Preparation of anti-pefloxacin antibody and development of an indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay for detection of pefloxacin residue in chicken liver. *J Agric Food Chem*, 54:6995-7000
6. Anne-Catherine Huet, et al. (2006) - Simultaneous determination of (fluoro)quinolone antibiotics in kidney, marine products, eggs, and muscle by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *J Agric Food Chem*, 54:2822-2827

Empfindlichkeit	0,13 ng/mL
Wiederfindung (aufgestockte Proben)	88 - 98%
Inkubationszeit	45 min

1. ALLGEMEINES



Chinolone gehören zur Gruppe der Antibiotika. Das erste Chinolon, Nalidixinsäure, wurde 1962 als Zwischenprodukt der Chloroquin-Synthese identifiziert. In den darauf folgenden Jahren wurden viele weitere Chinolone synthetisiert, charakterisiert und auf den Markt gebracht. Insbesondere das erste fluoridierte Produkt Norfloxacin stellte aufgrund stark verbesserter pharmakologischer Eigenschaften einen entscheidenden Durchbruch dar. Unter den Chinolonen ist Ciprofloxacin eine der bekanntesten Substanzen. Chinolone führen zu einem ternären Komplex der bakteriologischen DNA und deren Topoisomerase-Enzymen, was zum Zelltod der Bakterien führt. In vielen Ländern ist der Einsatz von Chinolonen im Rahmen der Nahrungsmittel-Industrie erlaubt. Da die Aufnahme von Chinolonen ein potentiell Risiko für den Verbraucher darstellt, sind in den meisten Ländern Höchstmengen von Chinolonen in Nahrungsmitteln reguliert. In der EU-Verordnung 37/2010 sind zum Beispiel die maximalen Rückstandsmengen in Abhängigkeit von Matrix und Chinolon zwischen 30 und 400 µg/kg (ppb) festgelegt. Somit ist eine Überwachung von Nahrungsmitteln bezüglich der Rückstände von Chinolonen zwingend erforderlich.

Der **Chinolone ELISA** stellt ein hochempfindliches Nachweissystem dar und ist insbesondere zur schnellen Quantifizierung von Chinolonen in Milch, Serum, Ei, Honig, Shrimps, Fisch, Fleisch und Leber geeignet.

2. TESTPRINZIP

Der **Chinolone** Test basiert auf dem Prinzip des Enzymimmunoassay (EIA). Ein gegen Chinolone gerichteter Antikörper ist auf der Oberfläche der Mikrotiterplatte gebunden. Darauf wird die Chinolone enthaltende Probe bzw. Standards, sowie ein Chinolon-Peroxidase-Konjugat in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte gegeben. Es findet eine Konkurrenz zwischen markiertem und unmarkiertem Chinolon um die limitierten Antikörper-Bindungsstellen statt. Nach einer 30-minütigen Inkubation bei Raumtemperatur wird die Platte mit verdünntem Waschpuffer gewaschen, um nicht-gebundenes Material zu entfernen. Eine Substratlösung wird hinzugepipettiert 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 Konzentration der Chinolone 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. Der Kontakt der Stopp-Lösung mit Haut und Schleimhäuten sollte vermieden werden, da mögliche Reizungen, Verbrennungen oder Vergiftungen auftreten können. Sollte ein Kontakt entstehen, muss der betroffene Bereich mit ausreichend Wasser abgespült werden.
3. 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-Chinolon-Antikörper.
2. **CAL 1 – 6** Ciprofloxacin Standards: 6 Fläschchen mit je 1,0 mL (0; 0,4; 1; 4; 10; 40 ng/mL), rot eingefärbt, gebrauchsfertig.
3. **ENZ CONJ** Konjugat (Chinolon-Peroxidase): 15 mL, rot eingefärbt, gebrauchsfertig.
4. **SUB TMB** Substratlösung (TMB), 15 mL, gebrauchsfertig.
5. **STOP SOLN** Stopp-Lösung (0,5 M H₂SO₄), 15 mL, gebrauchsfertig.
6. **SAM DIL 5x** Probenpuffer (PBS), 120 mL als 5x-Konzentrat, rot eingefärbt. Gebrauchslösung: 1+4 mit dest. Wasser verdünnen. Der verdünnte Puffer ist bei 4°C mindestens eine Woche haltbar. Falls bei der gekühlten Lagerung Kristalle ausfallen sollten, das Konzentrat 15 Minuten im Wasserbad (37°C) erwärmen.
7. **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.
8. Arbeitsanleitung.

6. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE GERÄTE UND REAGENZIEN

Geräte

- 50 - 1000 µL-Mikropipetten
- Messkolben
- Analysenwaage
- Mörser, Mixer
- Zentrifuge
- Mikrotiterplatten-Photometer (450 nm)
- Wasserbad
- Ein wiederverschließbarer Plastikbeutel für die Lagerung unbenutzter Streifen

Reagenzien

- Bidest. Wasser
- Methanol
- Chinolon Extraktionspuffer.
70% Methanol (v/v) 1:2 (1+1) mit **verdünntem** Probenpuffer verdünnen

7. PROBENVORBEREITUNG

Honig

- 1 g Honig in 5 mL 70% Methanol (v/v) suspendieren.
- Suspension 5 min schütteln.
- Extrakt durch Whatman #1 Filter filtrieren oder alternativ 15 min bei mindestens 3000 g zentrifugieren.
- 500 µL Filtrat / überständige Lösung mit 500 µL **verdünntem** Probenpuffer verdünnen und im ELISA einsetzen.
Verdünnungsfaktor = 10

Milch / Serum / Andere flüssige Proben

- Milch ggf. entfetten. Hierfür die Milch für 15 min bei 4°C und mindestens 2000 g zentrifugieren und anschließend die obere Fett-Phase entfernen.
- 1 mL der zuvor entfetteten Milch oder andere flüssige Probe in 9 mL Chinolon Extraktionspuffer suspendieren.
- Suspension für 5 min bei Raumtemperatur schütteln.
- Extrakt durch Whatman #1 Filter filtrieren oder alternativ 15 min bei mindestens 3000 g zentrifugieren. Für eine bessere Abtrennung des Fetts sollte die Zentrifuge, falls möglich, auf 4°C gekühlt sein.
- Filtrat / überständige Lösung im ELISA einsetzen.
Verdünnungsfaktor = 10

Alle weiteren festen Proben

- Um eine möglichst homogene und repräsentative Probennahme zu gewährleisten, sollten mindestens 5 g Probe in einem Mörser, Schlagmühle etc. fein zermahlen und gut durchmischt werden.
- 1 g der Probe in 10 mL Chinolon Extraktionspuffer suspendieren.
- Suspension 5 min bei Raumtemperatur schütteln.
- Extrakt durch Whatman #1 Filter filtrieren oder alternativ 15 min bei mindestens 3000 g zentrifugieren. Für eine bessere Abtrennung des Fetts sollte die Zentrifuge falls möglich auf 4°C gekühlt sein.
- Filtrat / überständige Lösung im ELISA einsetzen.
Verdünnungsfaktor = 10

Im Fall einer zu hoch konzentrierten Probe werden die zuvor hergestellten Extrakte mit Chinolon Extraktionspuffer weiter verdünnt

8. TESTDURCHFÜHRUNG

1. Proben nach Vorschrift vorbereiten.
2. 50 µL Standards bzw. vorbehandelte Proben im Doppelansatz in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte geben.
3. 100 µL des Chinolon-Peroxidase Konjugats in die Vertiefungen pipettieren.
4. Platte für 30 min bei Raumtemperatur inkubieren.
5. 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.
6. 100 µL Substratlösung zugeben.
7. Platte für 15 min bei Raumtemperatur im Dunkeln (z.B. Schrank oder Schublade, das Substrat ist lichtempfindlich) inkubieren.
8. Substratreaktion durch Zugabe von 100 µL Stopp-Lösung (0,5 M H₂SO₄) beenden. Die blaue Farbe wird dadurch in Gelb umgewandelt.
9. 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 (OD 450 nm) berechnet.
2. Aus den gemittelten Werten der Standardreihe wird graphisch auf halblogarithmischem Millimeterpapier oder über ein EDV-Programm (4-Parameter-Auswertung) eine Eichkurve erstellt. Die Extinktion jedes Standards (y-Achse) wird gegen die Konzentration in ng/mL (x-Achse) aufgetragen.
3. Die Ergebnisse der verdünnten Proben müssen mit dem entsprechenden Probenverdünnungsfaktor multipliziert werden, um den tatsächlichen Gehalt der Probe in ppb zu erhalten. Die Probenverdünnungsfaktoren sind im Abschnitt Probenvorbereitung aufgelistet.

Beispiel:

Ein Honigextrakt, welcher wie oben beschrieben hergestellt wurde, resultiert mit einem Testergebnis von 1,2 ng/mL. Die Konzentration der Probe wird wie folgt berechnet:

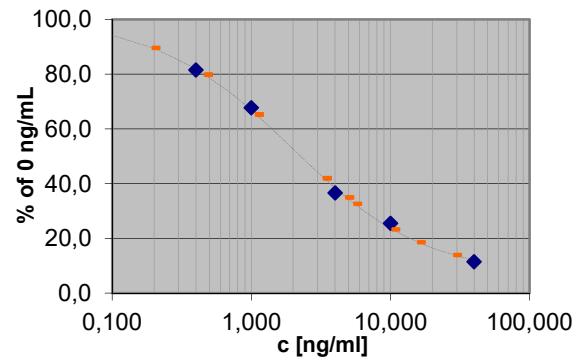
$$C_{\text{Probe}} = 1,2 \text{ (ng/mL)} * 10 \text{ (ppb*ml/ng)} = 12 \text{ ppb}$$

Sollte der Extrakt aufgrund einer zu hohen Probenkonzentration zusätzlich verdünnt worden sein, muss dies bei der Auswertung berücksichtigt 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.

Ciprofloxacin (ng/mL)	OD-% von 0 ng/mL
0	100
0,4	81
1	67
4	37
10	25
40	11



11. TECHNISCHE DATEN**Empfindlichkeit**

Die mittlere untere Nachweisgrenze (LOD) des **Chinolone Tests** beträgt 0,13 ng/mL bzgl. der Standardkurve.

Die mittlere untere Bestimmungsgrenze (LOQ) des **Chinolone Tests** beträgt 0,42 ng/mL bzgl. der Standardkurve.

Validierungsexperimente mit gebräuchlichen Matrices resultierten in folgenden LODs und LOQs [ppb].

Matrix	LOD	LOQ
Honig	1,6	4,0
Milch	1,5	5,6
Serum	1,2	4,1
Ei	2,2	5,0
Fleisch	1,5	5,1
Leber	2,2	4,3
Shrimps	2,8	5,8
Fisch	1,2	5,0

Wiederfindung

Honig	93%
Milch	96%
Serum	88%
Ei	92%
Fleisch	94%
Leber	98%
Shrimps	93%
Fisch	92%

Linearität

Die schrittweise Verdünnung dotierter Matrices (wie in der Tabelle Wiederfindung) ergab Verdünnungslinearitäten von 71-92%.

Präzision

Intra-Assay Präzision	4,3%
Inter-Assay Präzision	11,3%












Reaktivität

Clinafloxacin	159%
Gemifloxacin mesylate	133%
Danofloxacin	120%
Enrofloxacin	100%
Ciprofloxacin	100%
Moxifloxacin	61%
Norfloxacin	53%
Flumequine	29%
Levofloxacin	20%
Oxolinic acid	10%
Ofloxacin	10%
Marbofloxacin	5%

12. LITERATUR

1. Zhang, et al. (2011) – Development of an indirect competitive ELISA for simultaneous detection of enrofloxacin and ciprofloxacin. *J Zhejiang Univ-Sci B*, 12(11):884-891
2. Sijun Zhao, et al. (2009) – Developing and optimizing an immunoaffinity cleanup technique for determination of quinolones from chicken muscle. *J Agric Food Chem*, 57:365-371
3. Wei Sheng, et al. (2009) – Determination of marbofloxacin residues in beef and pork with an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Agric Food Chem*, 57:5971-5975
4. Chengbiao Zhao, et al. (2007) – Preparation of anti-gatifloxacin antibody and development of an indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of gatifloxacin residue in milk. *J Agric Food Chem*, 55:6879-6884
5. Shengxin Lz, et al. (2006) – Preparation of anti-pefloxacin antibody and development of an indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay for detection of pefloxacin residue in chicken liver. *J Agric Food Chem*, 54:6995-7000

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