

## INgezim Total Milk CROM

Prod. Ref: 30.MLK.K42

Ensayo inmunocromatográfico directo para la detección de proteína de leche en productos alimentarios y muestras medioambientales

INMUNOLOGIA Y GENETICA APLICADA, SA (INGENASA)

C/ Hnos Garcia Noblejas, 39 – 28037 MADRID (Spain)

Tel: (+34)91 3680501

www.ingenasa.com



Versión doc:150218

### COMPONENTES DEL KIT:

| Componente   | Unidades |    |
|--|----------|----|
|  |          |    |
| Tiras inmunocromatográficas INgezim Total Milk CROM  | 10       | 25 |
| Solución de extracción lista para su uso, 60 ml  | 1        | 3  |
| Pipetas plásticas  | 10       | 25 |
| Tubo para extracción   | 10       | 25 |
| Tiras de titulación de 8 pocillos para dispensar la muestra extraída y realizar el ensayo. | 2        | 4  |

### OTROS MATERIALES/REACTIVOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS:

- Pipeta de 5mL.
- Molinillo, stomacher, mortero o cualquier otro homogenizador mecánico o manual para triturar la muestra.

### CONSERVACIÓN DEL KIT:

Todos los componentes del kit deben ser conservados entre +4 °C y +25 °C, dentro de su envase original hasta su utilización.

### FUNDAMENTO DEL ENSAYO

El test se basa en la técnica de la inmunocromatografía, una técnica de migración que utiliza anticuerpos específicos de caseína y  $\beta$ -lactoglobulina, y es capaz de detectar residuos de dichas proteínas presentes en productos alimentarios y muestras medioambientales (existe un protocolo especial para este tipo de muestras. Consultar con el fabricante).

### LÍMITES DE DETECCIÓN

- El test INgezim Total Milk CROM es un test cualitativo. En caso de necesitar cuantificar la cantidad de caseína y/o  $\beta$ -lactoglobulina (ppm) en la muestra se recomienda la utilización del ensayo de ELISA INgezim Caseína (REF 30.CAS.K2) y/o ELISA INgezim  $\beta$ -lactoglobulina (REF 30.BLG.K2).
- El test INgezim Total Milk CROM es capaz de detectar hasta 0.25 ppm de proteína de leche diluida en tampón de extracción.
- El test INgezim Total Milk CROM es capaz de detectar hasta 0.25 ppm de proteína de leche en una matriz de leche de soja contaminada. Teniendo en cuenta que para la realización del test la muestra se ha diluido 10 veces en el tampón de extracción, la muestra debe contener un mínimo de 2.5 ppm para que el test muestre resultado positivo.
- Debe tenerse en cuenta que las muestras muy viscosas, densas o con mucha grasa pueden no migrar correctamente por la membrana, por lo que la señal puede verse afectada (atenuación o desaparición de la línea test y control).
- El test INgezim Total Milk CROM es específico de caseína y  $\beta$ -lactoglobulina, y no reconoce otras proteínas de la leche.
- En caso de resultado positivo, si se necesita diferenciar si la contaminación de leche proviene de la presencia de Caseína o de  $\beta$ -lactoglobulina, se recomienda la utilización del ensayo INgezim Caseína CROM (30.CAS.K42) y/o INgezim  $\beta$ -lactoglobulina CROM (30.BLG.K42).

### PRECAUCIONES

1. Leer atentamente las instrucciones de uso.
2. Mantener los reactivos a temperatura ambiente antes de su utilización.
3. No mezclar reactivos ni instrucciones de diferentes lotes o diferentes kits.
4. Evitar cualquier contaminación de los reactivos.
5. No utilizar los kits una vez superada la fecha de caducidad.
6. No comer, beber ni fumar mientras se manipulan las muestras y/o reactivos.

(\*NOTA: Cuanta más cantidad de muestra se emplee para hacer la extracción, más representativo será el análisis y más fiable el resultado. Si se desea extraer una mayor cantidad de muestra de la indicada mantener siempre la **relación 1:10** (muestra: tampón de extracción).

### PROCEDIMIENTO:

#### A.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS (\*):

##### Muestras sólidas

1. Triturar la muestra hasta conseguir una consistencia de polvo lo más fino posible. Usar un mortero o un homogenizador mecánico. Si se van a analizar más de una muestra, lavar con jabón el homogenizador, enjuagar bien con agua y finalmente secar con etanol al 70%.

##### Muestras líquidas

1. Agitar la muestra para asegurar que está homogénea y se toma una parte representativa.
2. Tomar **0.5 ml** de muestra y diluirla en **4.5 ml** de tampón de extracción de la muestra suministrado.
3. Agitar durante 15-30 segundos con ayuda de un vórtex o agitador mecánico para asegurar la homogenización.
4. En caso de muestras sólidas, dejar que la muestra sedimente durante unos minutos.
5. Añadir 10 gotas del sobrenadante en un pocillo limpio. En las muestras con alto contenido en grasas, evitar coger la capa de grasa del sobrenadante.

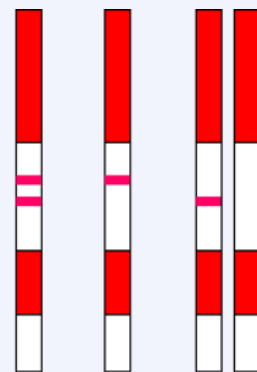
#### B.- REALIZACIÓN DEL TEST:

Abrir el tubo que contiene las tiras diagnósticas SÓLO en el momento de ir a realizar la prueba y volver a taparlo de inmediato.

Extraer las tiras necesarias e introducir las verticalmente en cada uno de los pocillos de la placa que contienen las muestras preparadas según procedimiento descrito. El extremo blanco de la tira es el que debe entrar en contacto con la muestra

Mantenerlas durante 10 min. Transcurridos estos 10 min, extraer las tiras de los pocillos y disponerlas sobre una superficie plana y blanca (preferiblemente) para realizar la lectura de los resultados.

#### C.- LECTURA E INTERPRETACION DE RESULTADOS:



POSITIVO NEGATIVO NO VÁLIDO

• **POSITIVO:** Aparecen dos bandas o líneas en la zona de lectura de color rojizo, siendo la superior la línea control y la inferior la de resultados. La intensidad de la línea de resultados puede variar, sin embargo, no siempre es proporcional a la concentración de proteína de leche en la muestra.

• **NEGATIVO:** Aparece solamente la línea roja superior en la ventana de lectura.

• **NO VÁLIDO:** Pueden darse dos situaciones: 1) que no aparezca ninguna línea en la ventana de lectura; o 2) que aparezca únicamente la línea inferior roja. Los resultados no válidos pueden ser causados por el deterioro de los reactivos o por una manipulación incorrecta. En este caso, debería repetirse el test empleando una tira nueva.

*Es recomendable no dar ninguna muestra definitivamente por negativa hasta no haber transcurrido diez minutos de la realización del análisis.*

## INgezim Total Milk CROM

Prod. Ref: 30.MLK.K42

Direct immunochromatographic assay, for specific detection of milk protein in food and environmental samples

### KIT COMPONENTS:

| Component  | Units |    |
|--|-------|----|
|  |       |    |
| INgezim Total Milk CROM assay strips   | 10    | 25 |
| Bottle containing 60 ml of extraction solution, ready to use                         | 1     | 3  |
| Plastic disposable pipettes  | 10    | 25 |
| Empty tubes for extraction procedure   | 10    | 25 |
| Microtiter 8-well strips for dispensing the extracted samples and running the assay. | 2     | 4  |

### OTHER NEEDED MATERIALS NOT PROVIDED WITH THE KIT:

- Pipette for measuring 5ml
- Grinder, stomacher, mortar or any other, manual or automatic homogenization system for an adequate sample crushing.

### STORAGE CONDITIONS OF THE KIT:

All components should be stored between +4 °C and +25 °C, always inside its original packaging till the time of use.

### TEST BASIS:

The test is based on a lateral flow assay, a migration technique which uses specific antibodies to casein and  $\beta$ -lactoglobulin, and it is able to detect residues of these proteins in all food matrix and environmental samples (there is a specific protocol for this kind of samples. Please consult the manufacturer).

### DETECTION LIMITS:

- INgezim Total Milk CROM is a qualitative assay. In case of interest in casein and/or  $\beta$ -lactoglobulin quantification (ppm), we recommend to use the ELISA INgezim Caseina assay (Prod. Ref. 30.CAS.K2) and/or ELISA INgezim  $\beta$ -lactoglobulina (REF 30.BLG.K2).
- The detection limit of the INgezim Total Milk CROM is 0.25 ppm of milk protein diluted in the extraction buffer.
- INgezim Total Milk CROM is able to detect up to 0.25 ppm of milk protein in soy milk matrix fortified with milk protein. Considering that the sample to be assayed with the kit has been diluted 1/10 in extraction buffer, sample should contain more than 2.5 ppm of casein to obtain a positive result.
- Samples very viscous, dense or with a high content of fat could migrate incorrectly along the membrane. Thus, signal can be affected (attenuation or disappearance of test and control line).
- The test INgezim Total Milk CROM is specific for casein and  $\beta$ -lactoglobulin, and do not cross react or recognises other milk proteins.
- When it is necessary to differentiate if the milk contamination comes from casein or from  $\beta$ -lactoglobulin, we recommend to use the INgezim Caseina CROM assay (30.CAS.K42) and/or INgezim  $\beta$ -lactoglobulina CROM assay (30.BLG.K42).

### WARNINGS

1. Read the instructions carefully.
2. Bring all reagents to room temperature before use.
3. Do not mix reagents from different kits or batches.
4. Avoid contamination of reagents.
5. Do not use kits after the expiration date.
6. Do not eat, drink or smoke while handling samples and / or reagents.

(\*)NOTE: The more sample amount is used for the extraction, the more representative will be the analysis and the more reliable the result. If you want to extract more amount of sample, be sure to always maintain the relationship **1:10** (sample: extraction buffer).

INMUNOLOGIA Y GENETICA APLICADA, SA (INGENASA)

C/ Hnos Garcia Noblejas, 39 – 28037 MADRID (Spain)

Tel: (+34)91 3680501

www.ingenasa.com



Version doc:150218

### INSTRUCTIONS:

#### A.- SAMPLE PREPARATION (\*):

##### Solid Samples

1. Crush the sample to obtain a powder consistency as thin as possible. Use a mortar or a mechanical homogenizer. If you are going to analyze more than one sample, wash properly the homogenizer with soap, rinse thoroughly with water and finally dry it with 70 % ethanol.

##### Liquid Samples

1. Shake the sample to ensure it is homogeneous and that you are taking a representative part of it.
2. Weigh **0.5 g** of sample and place it into a provided tube. Add **5 ml** of supplied extraction buffer.
2. Take **0.5 ml** of sample and place it into a provided tube. Add **4.5 ml** of supplied extraction buffer.
3. Stir for 15-30 seconds using a vortex mixer or agitator to ensure homogenization.
4. In case of solid samples, allow the sample to settle for a few minutes.
5. Add 10 drops of the supernatant in a clean well (8-well strips provided). For samples with high fat content, avoid taking the fat layer of the supernatant.

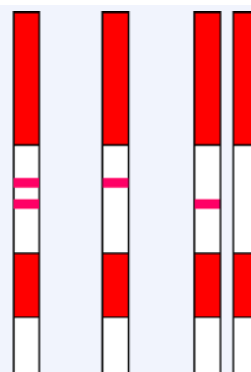
#### B.- TEST PROCEDURE:

Open the tube containing the strips, JUST before performing the assay, and close it immediately.

Take the strips and put them vertically, one in each well containing the prepared samples. The white end of the strip should be pointing at the sample direction.

Keep there during 10 minutes. After these 10 minutes, take the strips out and put them on a flat and (preferably) white surface, for reading the results.

#### C.- READING AND INTERPRETATION OF THE RESULTS:



**POSITIVE NEGATIVE NOT VALID**

• **POSITIVE:** Two red lines appear on the reading zone, being the upper one the control band and the bottom one the results band. The color intensity of the results line may vary, but it could be not proportional to the milk protein concentration in the sample.

• **NEGATIVE:** Only the upper red line appears on the reading zone.

• **NOT VALID:** There are two possible situations: 1) no lines are visible or 2) only the bottom red line appears. Not valid results may be caused by damaged reagents or by an incorrect manipulation. In this case, the test should be repeated using a new strip.

*We recommend not to consider any sample as negative until 10 minutes have passed.*