

Внесена в реестр МВИ под обозначением
O`zO`U 0534:2011 (RIDASCREEN® T2-Toxin
Art. No.: R3801)

RIDASCREEN® T2-Toxin
Art. No.: R3801
(аутентичный перевод)

Иммуноферментный анализ для количественного определения T-2 токсина

Тест-система для анализа в искусственных условиях
Хранить при (2 – 8) °C

R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany
Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Telefax: +49 (0) 61 51 81 02-20

Адрес:
R-Biopharm AG
An der neuen Bergstraße 17
D-64297 Darmstadt
www.r-biopharm.de

По вопросам обращаться:

Телефон:

Центр / прием заказов (0 61 51) 81 02-0

Секретариат по маркетингу (0 61 51) 81 02-84

Телефакс / E-Mail:

Прием заказов (0 61 51) 81 02-20

orders@r-biopharm.de

Маркетинг

(0 61 51) 81 02-40

info@r-biopharm.de

RIDA® и RIDASCREEN® - зарегистрированная торговая марка R-Biopharm AG
Производитель: R-Biopharm AG, Дармштадт, Германия

R-Biopharm AG сертифицирован по ISO 9001

Краткое описание

RIDASCREEN® T-2 Toxin (Артикул №.: R3801) представляет собой набор для количественного определения T-2 токсина в зерне и кормах методом конкурентного иммуноферментного анализа.

Все необходимые для иммуноферментного анализа реагенты, включая стандарты (опорные образцы), входят в комплектацию набора.

Набор предназначен для 96 измерений (включая стандарты).

Для количественного анализа требуется микропланшетный ИФА-анализатор (ридер).

Пробоподготовка:	экстракция, фильтрация и разбавление
Затраты времени:	пробоподготовка (для 10 проб).....около 30 минут проведение анализа (время инкубации)1 час 30 минут
Предел обнаружения:	< 5 ppb (около 3,5 ppb)
Полнота извлечения:	В искусственно зараженных пробах зерна 90 % ± 10 %
Специфичность:	Специфичность анализа RIDASCREEN® T-2 Toxin была установлена посредством определения перекрёстной чувствительности к соответствующим микотоксинам. T-2 Toxin..... 100 % Acetyl T-2 Toxin около 114 % HT-2 Toxin около 7 % Iso T-2 Toxin около 2 %

1. Назначение

Тест RIDASCREEN® T-2 Toxin - конкурентный иммуноферментный анализ для количественного определения T-2 токсина в зерне и кормах.

2. Общие положения

Микотоксин T-2 Токсин относится к трихотеценам и производится грибами рода *Fusarium*. Частота его обнаружения, а также его концентрация в сельскохозяйственных продуктах зависит от региона.

Из-за своего цитотоксического и иммунодепрессивного действия, T-2 токсин представляет угрозу здоровью человека и животных.

3. Принцип метода

В основе теста - взаимодействие антигенов с антителами. Лунки микротитровального планшета покрыты специфическими антителами против антигенов анти-T-2 токсина. Добавляются стандарты (опорные образцы) T-2 токсина или растворы проб, а также ферментный конъюгат T-2 токсина и антитела анти-T-2 токсина. Свободный T-2 токсин и ферментный конъюгат T-2 токсина конкурируют за места связывания антител T-2 токсина (конкурентный иммуноферментный анализ). Одновременно антитела анти-T-2 токсина так же связываются неподвижными антителами захвата. Несвязавшийся ферментный конъюгат затем удаляется в процессе промывки. Далее в лунки добавляются субстрат и хромоген, связавшийся ферментный конъюгат преобразует хромоген в вещество голубого цвета. Добавление стоп-раствора приводит к изменению цвета с голубого на желтый. Измерение проводится фотометрически при 450 nm. Оптическая плотность раствора обратно пропорциональна концентрации T-2 токсина в образце.

4. Поставляемые реагенты

Каждый набор содержит достаточное количество материалов для 96 измерений (включая стандарты). Каждая тест-система содержит:

- 1 x Микротитровальный планшет с 96 лунками (12 полос (стрипов) с 8 сменными лунками каждый), покрытый антителами захвата
- 6 x Растворы стандартов (опорных образцов), (каждый по 1,3 mL),
0 ppb (нулевой стандарт), 0,1 ppb, 0,2 ppb, 0,4 ppb, 0,8 ppb, 1,6 ppb
T-2 токсина в водном растворе, готов к использованию
- 1 x Конъюгат (5 mL).....красная крышка
T-2 токсина с пероксидазой, готов к употреблению

- 1 x Антитела анти-T-2 токсина (5 mL)чёрная крышка
моноклональные, готовы к употреблению
- 1 x Субстрат (7 mL).....зеленая крышка
Содержит пероксид мочевины
- 1 x Хромоген (7 mL)голубая крышка
Содержит тетраметилбензидин
- 1 x Стоп-раствор (14 mL).....желтая крышка
содержит 1 N серную кислоту
- 1 x Буфер для разбавления проб (50 mL)

5. Реагенты, оборудование и расходные материалы, необходимые дополнительно

5.1. Оборудование:

- спектрофотометр микротитровальных планшетов (450 nm)
- лабораторная мельница
- магнитная мешалка
- бумажные фильтры или центрифуга
- регулируемые микропипетки на 20 – 200 µL и 200 – 1000 µL

5.2. Реагенты

- метанол
- для разбавления проб (при факторе разбавления больше 35): фосфатный буфер, pH 7,2 (0,55 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ + 2,85 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ + 9 g NaCl дополнить до 1000 mL метанолом/дистиллированной водой в объемном соотношении 10/90)

Этот буфер содержит 10 % метанола, чтобы пробы все время находились в 10 %-ном метаноле (также см. 9.1.).

6. Предупреждения и меры предосторожности

Стандарты содержат T-2 токсин. При работе необходимо предпринять особые меры предосторожности. Избегайте контакта реагентов с кожей (используйте перчатки).

Обеззараживание (деконтаминацию) стеклянной посуды и растворов, содержащих T-2 токсин лучше всего проводить, используя 10 % раствор гипохлорита натрия. Соляной кислотой доведите pH раствора гипохлорита до 7, залейте раствор в загрязненную посуду и оставьте на ночь.

Стоп-раствор содержит в своем составе 1 N серную кислоту (R36/38, S2-26).

7. Инструкция по хранению реагентов

Храните комплект при температуре (2 – 8) °C. Не замораживайте.

Неиспользованные микролунки поместите в оригинальную упаковку из фольги и плотно закройте её вместе с прилагаемым осушителем. Храните при температуре (2 – 8) °C

T-2 токсин светочувствителен, поэтому избегайте попадания на него прямого света.

Прозрачный хромоген светочувствителен, поэтому избегайте попадания на него прямого света.

Не используйте тест-систему с истекшим сроком годности, указанным на ярлыке комплекта, так как гарантия качества в этом случае аннулируется.

Не заменяйте реагенты в составе одного комплекта реагентами из другого комплекта с другим номером партии.

8. Признаки непригодности реагентов

- окрашивание красноватого раствора субстрата/хромогена в голубой цвет до добавления в лунки
- оптическая плотность в лунке с нулевым стандартом ниже 0,6 ($E_{450\text{ nm}} < 0,6$).

9. Пробоподготовка

Пробы должны храниться в прохладном темном месте, защищенном от попадания прямого света.

Представительную пробу (отобранную по официальным предписаниям) перед экстракцией необходимо размельчить и перемешать.

9.1. Зерно и корма

- взвесьте 5 g размельчённой пробы и добавьте 25 mL 70 %-го метанола *)
- тщательно перемешивайте в течение 10 минут с помощью магнитной мешалки
- профильтруйте экстракт через фильтровальную бумагу или центрифугируйте
- фильтрат или супернатант разведите буфером для разбавления проб (см. 4) в соотношении 1:7 (1+6), например 50 μL фильтрата или супернатанта + 300 μL буфера
- внесите в лунку планшета 50 μL разведённого фильтрата или супернатанта на лунку (если ожидается содержание Т-2 токсина менее 56 ppb)

*) Объем пробы может быть увеличен пропорционально раствору метанол/вода, например 25 g в 125 mL метанола /дистиллированной воды 70/30 или 50 g в 250 mL метанола /дистиллированной воды 70/30

При высоких концентрациях Т-2 токсина (более 56 ppb) требуется дальнейшее разбавление экстракта, например 1:10 (1+9) с фосфатным буфером, содержащим 10 % метанола (см. 5.2.), к примеру 50 μL разбавленного экстракта + 450 μL фосфатного буфера с 10 % метанола.

10. Порядок проведения тестирования

10.1 Предварительные указания

Перед использованием доведите все реагенты до комнатной температуры (20 – 25) °C.

10.2 Процедура анализа

Тщательно следуйте рекомендуемой процедуре промывки. В процессе выполнения анализа не допускайте высыхания микролунок.

1 Вставьте в рамку планшета микролунки в количестве, достаточном для всех стандартных и исследуемых растворов в двух повторностях. Запишите положения лунок со стандартными и исследуемыми растворами на планшете.

2 Добавьте по 50 μL стандартного или исследуемых растворов для анализа в двух повторностях в соответствующие лунки. Для каждого раствора используйте новые наконечники для пипеток.

3 Добавьте по 50 μL ферментного конъюгата (красная крышка) в соответствующие лунки.

4 Добавьте по 50 μL раствора антител анти-Т-2 токсина (чёрная крышка) в каждую лунку. Перемешайте, осторожно вращая планшет рукой, и оставьте на инкубацию в течение 1 часа при комнатной температуре (20 – 25) °C.

5 Вылейте жидкость из лунок, переверните рамку планшета и тщательно выбейте капельки жидкости, оставшиеся в лунках, путем тройкратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому фильтровальной бумагой. Заполните все лунки по 250 μL дистиллированной воды, и снова вылейте жидкость. Повторите процедуру промывки лунок еще два раза.

6 Добавьте по 50 μL субстрата и хромогена в каждую лунку. Перемешайте, осторожно вращая планшет рукой, и оставьте на инкубацию при комнатной температуре (20 – 25) °C в течение 30 минут в темноте.

7 Добавьте в каждую лунку по 100 μL стоп-раствора. Перемешайте, осторожно вращая планшет рукой и измерьте оптическую плотность в каждой лунке при 450 nm. Снимите показания не позднее 30 минут после добавления стоп-раствора.

11. Результаты

Специальное программное обеспечение RIDA® SOFT Win (Артикул № Z9999) доступно для RIDASCREEN® ферментных иммунохимических анализов.

Траектория стандартной кривой показана в Сертификате Гарантии Качества, вложенный в тест комплект.

Замечание для расчета без программного обеспечения

$$\frac{\text{Оптическая плотность стандарта (или пробы)}}{\text{Оптическая плотность нулевого стандарта}} \times 100 = \% \text{ оптической плотности}$$

Нулевой стандарт, таким образом, приравнивается 100 %, а величины оптической плотности указываются в процентах. Вычисленные значения для стандартов (опорных образцов) фиксируются в системе координат на бумажной полулогарифмической кривой в отношении к концентрации (массовой доле) Т-2 токсина [ppb].

Для того чтобы вычислить концентрацию Т-2 токсина в ppb в исходной пробе, величину концентрации Т-2 токсина, полученную по калибровочной кривой, следует умножить на соответствующий фактор разбавления. При выполнении анализа в соответствии с приведенной методикой фактор разбавления принимает следующие значения:

Зерно, корма35 (или 350)

Область измерения стандартной кривой оказывается, таким образом, в диапазоне между 3,5 и 56 ppb (или между 35 и 560 ppb) Т-2 токсина в образцах зерна и кормов.

R-Biopharm AG гарантирует стандартное качество всех материалов, входящих в состав набора. В случае изначального дефекта каких-либо материалов R-Biopharm
--

обеспечивает их замену. R-Biopharm AG не отвечает за любые повреждения, вытекающие из-за некорректной работы с набором, а так же не покрывает расходы, связанные напрямую или косвенно с неправильным применением данного набора.