

Внесена в реестр МВИ под обозначением  
O`zO`U 0531:2011 (RIDASCREEN® DON  
Art. No.: R5906)

**RIDASCREEN® DON Art. No.: R5906**  
(аутентичный перевод)

## **Иммуноферментный анализ для количественного определения Деоксиниваленола**

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](http://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](mailto:orders@r-biopharm.de)

Маркетинг (0 61 51) 81 02-40

[info@r-biopharm.de](mailto: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® DON (Артикул №.: R5906) представляет собой набор для количественного определения деоксиниваленола в зерне, солоде, кормах, пиве и приправе 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).

Для проведения тестирования не требуется специальной подготовки лаборанта/техника. Тем не менее, при необходимости по запросу предлагается бесплатная техническая и методическая поддержка.

Пробоподготовка:	зерно, солод: экстракция и фильтрование пиво: дегазация приправа: без пробоподготовки
Затраты времени:	пробоподготовка (для 10 проб) зерно, солод, корма.....около 10 минут пиво .....около 5 минут приправа .....нет проведение анализа (время инкубации) .....45 минут
Предел обнаружения:	зерно, солод, корма.....18,5 ppb пиво .....3,7 ppb приправа .....3,7 ppb
Полнота извлечения:	в зерне, солоде, кормах, пиве и приправе .....85 – 110 %
Специфичность:	Специфичность анализа RIDASCREEN® DON была установлена посредством определения перекрёстной чувствительности к соответствующим микотоксинам. Деоксиниваленол.....100% 3-Acetyldeoxynivalenol ..... > 100 % 15-Acetyldeoxynivalenol ..... около 19 % Nivalenol ..... около 4 % Fusarenon X ..... < 1 % T-2 Toxin..... < 1 %

## 1. Назначение

Тест RIDASCREEN® DON - конкурентный иммуноферментный анализ для количественного определения деоксиниваленола в зерне, солоде, кормах, пиве и приправе.

## 2. Общие положения

Деоксиниваленол, микотоксин группы трихотеценов, образуется грибами рода *Fusarium*. Деоксиниваленол встречается в растительных продуктах, в частности в зерне. Из более 150 известных в Европе и Северной Америке трихотеценов преобладает деоксиниваленол, а также 3-ацетил- и 15-ацетил-деоксиниваленол. Концентрация токсинов, особенно в пшенице, кукурузе или рисе, обычно находится в области ppm. Из-за своего цитотоксического и иммунодепрессивного действия, эти токсины представляет угрозу здоровью человека и животных.

## 3. Принцип метода

В основе теста - взаимодействие антигенов с антителами. Лунки микротитровального планшета покрыты антителами направленными против антител антидеоксиниваленола. Добавляются стандарты (опорные образцы) или растворы исследуемых образцов, а также ферментный конъюгат деоксиниваленола и антитела антидеоксиниваленола. Свободный деоксиниваленол и деоксиниваленол ферментного конъюгата конкурируют за места связывания антител деоксиниваленола (конкурентный иммуноферментный анализ). Одновременно антитела антидеоксиниваленола связываются фиксированными на поверхности лунок антителами захвата. Несвязавшийся ферментный конъюгат затем удаляется в процессе промывки. Далее в лунки добавляется раствор субстрата/хромогена, связавшийся ферментный конъюгат преобразует хромоген в вещество голубого цвета. Добавление стоп-раствора приводит к изменению цвета с голубого в желтый. Измерение проводится фотометрически при 450 nm. Оптическая плотность раствора обратно пропорциональна концентрации деоксиниваленола 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
- 5 x Растворы стандартов (опорных образцов), (каждый по 1,3 mL), 0 ppb (нулевой стандарт), 3,7 ppb, 11,1 ppb, 33,3 ppb, 100 ppb деоксиниваленола в воде, готовы к использованию
- 1 x Конъюгат (6 mL).....красная крышка  
деоксиниваленола с пероксидазой  
готов к использованию
- 1 x Антитела к деоксиниваленолу..... чёрная крышка  
(6 mL), моноклональные  
готовы к использованию
- 1 x раствор субстрата/хромогена (10 mL).....коричневая крышка  
подкрашен в красный цвет  
содержит тетраметилбензидин
- 1 x Стоп-раствор (14 mL).....желтая крышка  
содержит 1 N серную кислоту
- 1 x Моющий буфер (соль)  
для приготовления 10 mM фосфатного буфера, pH 7,4  
содержит 0,05 % полисорбата Tween 20

## **5. Реагенты, оборудование и расходные материалы, необходимые дополнительно**

### **5.1. Оборудование:**

- спектрофотометр микротитровальных планшетов (450 nm)
- градуированные цилиндры (пластмассовые или стеклянные) 100 mL, 1 L
- для пробоподготовки: фильтровальная воронка и стеклянная колба (50 mL)
- дробилка (мельница)
- необязательно: шейкер
- фильтровальная бумага: Whatman No.1 или аналогичная
- регулируемые микропипетки на 20 – 200 µL и 200 – 1000 µL

### **5.2. Реагенты**

- дистиллированная или деионизированная вода

## **6. Предупреждения и меры предосторожности**

Стандартные растворы содержат деоксиниваленол. При работе необходимо предпринять особые меры предосторожности. Избегайте контакта реагентов с кожей (используйте перчатки).

Обеззараживание (деконтаминацию) стеклянной посуды и растворов, содержащих деоксиниваленол 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 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.

Раствор субстрата/хромогена 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, солод и корма

- взвесьте 5 g размельченной пробы и добавьте 25 mL дистиллированной воды \*)
- тщательно перемешивайте в течение 3 минут (вручную или с помощью шейкера)
- профильтруйте экстракт через фильтровальную бумагу Whatman No.1
- в тесте используют 50  $\mu\text{L}$  разбавленного фильтрата на лунку.

\*) По необходимости объем пробы может быть увеличен, но при этом нужно пропорционально увеличить объем дистиллированной воды, например 25 g в 125 mL дистиллированной воды или 50 g в 250 mL дистиллированной воды.

### 9.2. Пиво

- дегазируйте достаточный объем пробы пива (например посредством фильтрации или помешивания максимально избавьтесь от газа до видимого отсутствия пузырьков)
- на анализ используют 50  $\mu\text{L}$  свободной от  $\text{CO}_2$  пробы на лунку

**Мутные пробы пива (например нефильтованное) должны пройти стерилизующее фильтрование перед дегазацией  $\text{CO}_2$  до тестирования!**

### 9.3. Приправа

- в тесте непосредственно используется по 50  $\mu\text{L}$  на лунку

**Мутные пробы должны пройти стерилизующее фильтрование перед тестированием!**

## 10. Порядок проведения тестирования

### 10.1 Предварительные указания

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

В качестве **моющего буфера** необходим фосфатно-солевой буфер (PBS) с Tween 20. Используйте соль для буфера, которая входит в комплектацию пакета (см.4). Растворите содержимое прилагаемого пакетика буферной соли в 1 L дистиллированной воды. Готовый моющий буфер может храниться при температуре (2 – 8) °C в течение 4 - 6 недель.

Как альтернатива: Растворите содержимое пакетика в только 100 mL дистиллированной воды чтобы получить 10тикратно концентрированный моющий буфер. Этот раствор может храниться около 8-12 недель при комнатной температуре (20 – 25) °C.

Для приготовления готового к употреблению моющего буфера растворите одну часть этого концентрата в 9 частях дистиллированной воды.

### 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. Запишите положения лунок со стандартными и исследуемыми растворами на планшете.

2 Добавьте пипеткой 50 µL стандартного или исследуемого раствора в соответствующие лунки. Для каждого раствора используйте новые наконечники на пипетки.

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

4 Добавьте по 50 µL раствора антител анти-деоксиниваленола (чёрная крышка) в каждую лунку. Перемешайте, осторожно вращая планшет рукой, и оставьте на инкубацию при комнатной температуре (20 – 25) °C в течение 30 минут.

5 Вылейте жидкость из лунок, переверните рамку планшета и тщательно выбейте капельки жидкости, оставшиеся в лунках, путем троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому фильтровальной бумагой. Используя промывную ёмкость или многоканальную пипетку, заполните лунки дистиллированной или деионизированной водой (250 µL на каждую лунку) (моющим буфером для образцов пшеницы, см.10.1), и снова вылейте жидкость. Повторите процедуру промывки лунок еще два раза.

6 Добавьте по 100 µL субстрата/хромогена (коричневая крышка) в каждую лунку. Перемешайте, осторожно вращая планшет рукой, и оставьте на инкубацию при комнатной температуре (20 – 25) °C в течение 15 минут в темноте.

7 Добавьте в каждую лунку по 100 µL стоп-раствора (жёлтая крышка). Перемешайте, осторожно вращая планшет рукой, и измерьте оптическую плотность при 450 nm. Снимите показания не позднее 15 минут после добавления стоп-раствора.

## 11. Результаты

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

Для одиночных определений мы рекомендуем Logit/log оценку, для двух или многократных определений может быть использован Cubic Spline.

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) деоксиниваленола В<sub>1</sub> [ppb].

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

Зерно, солод, корма .....	5
Пиво.....	1
Приправа.....	1

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.