

Внесена в реестр МВИ под обозначением
O`zO`U 0532:2011 (RIDASCREEN®
Fumonisin Art. No.: R3401)

RIDASCREEN® Fumonisin Art. No.: R3401
(аутентичный перевод)

Иммуноферментный анализ для количественного определения Фумонизина

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® Fumonisin (Артикул №.: R3401) представляет собой набор для количественного определения фумонизина в кукурузе и кукурузных изделиях методом конкурентного иммуноферментного анализа.

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

Набор предназначен для 96 измерений (включая стандарты).

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

Пробоподготовка:	экстракция, фильтрование и разбавление
Затраты времени:	пробоподготовка (для 10 проб).....около 30 минут проведение анализа (время инкубации)45 минут
Предел обнаружения (соответствующий стандартному веществу)25 ppb
Полнота извлечения: (соответствующая стандартному веществу)	в искусственно зараженных пробах кукурузной крупы 50 и 500 (ppb):.....около 60 % средний коэффициент вариации.....около 8 %
Специфичность	Специфичность анализа RIDASCREEN® Fumonisin была установлена посредством определения перекрёстной чувствительности к соответствующим микотоксинам в буферной системе. Fumonisin B ₁ 100 % Fumonisin B ₂ около 40 % Fumonisin B ₃ около 100 %

1. Назначение

Тест RIDASCREEN® Fumonisin - конкурентный иммуноферментный анализ для количественного определения фумонизина в кукурузе и кукурузных изделиях.

2. Общие положения

Фумонизины являются канцерогенными, нейро-, гепато- и пневмотоксичными метаболитами плесневого гриба *Fusarium moniliforme*, патогенного паразита, растущего специфически на кукурузе.

Необходимая для токсического воздействия доза фумонизина значительно зависит от вида животных. Концентрации фумонизина около 5 - 10 ppm в корме достаточно для нейротоксического эффекта у лошадей. При попадании в организм свиней 4 - 16 мг фумонизина на килограмм веса возможен цирроз печени, при попадании более 16 мг на килограмм веса - отёк лёгких. Откормочные и домашние цыплята переносят более высокую концентрацию фумонизина в корме (от 75 ppm). Крупный рогатый скот относительно устойчив даже при высоких концентрациях фумонизина.

3. Принцип метода

В основе теста - взаимодействие антигенов с антителами. Лунки микротитровального планшета покрыты антителами захвата, направленными против антител анти-фумонизина. Добавляются стандарты (опорные образцы) фумонизина или растворы образцов, а также ферментный конъюгат фумонизина и антитела анти-фумонизина. Свободный фумонизин и ферментный конъюгат фумонизина конкурируют за места связывания антител фумонизина (конкурентный иммуноферментный анализ). Одновременно антитела анти-фумонизина связываются антителами захвата. Несвязавшийся ферментный конъюгат затем удаляется в процессе промывки. В лунки добавляется субстрат/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 фумонизина 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 захват
- 6 x Растворы стандартов (опорных образцов), (каждый по 1,3 mL),
0 ppm (нулевой стандарт), 0.025 ppm, 0,074 ppm, 0,222 ppm, 0,666 ppm, 2 ppm
фумонизина в метаноле/воде, готовый к использованию
- 1 x Конъюгат (6 mL)красная крышка
фумонизина с пероксидазой
готов к использованию
- 1 x Антитела к фумонизину (6 mL)чёрная крышка
готовы к использованию
- 1 x Раствор субстрата/хромогена (10 mL), подкрашен в красный цвет
.....коричневая крышка
- 1 x Стоп-раствор (14 mL).....желтая крышка
содержит 1 N серную кислоту

*) В указанных концентрациях учтен фактор разбавления - 70, который следует из процедуры пробоподготовки. Концентрации фумонизина в образцах определяются непосредственно по калибровочной кривой.

5. Реагенты, оборудование и расходные материалы, необходимые дополнительно

5.1. Оборудование:

- спектрофотометр микротитровальных планшетов (450 nm)
- градуированный цилиндр (пластмассовый или стеклянный) (250 mL)
- стеклосуда для подготовки экстракта образца: фильтровальная воронка и колба (300 mL)
- дробилка (мельница)
- проточный диспергатор Ultra-Turrax
- необязательно: шейкер
- фильтровальная бумага: Whatman No.1 или аналогичная
- регулируемые микропипетки на 20 – 200 µL и 200 – 1000 µL

5.2. Реагенты

- метанол
- раствор метанола с объемной долей 70 %: приготовьте 70 %-ный раствор метанола путём смешивания 70 mL (100 %-ного метанола) с 30 mL дистиллированной воды
- дистиллированная (или деионизированная) вода

6. Предупреждения и меры предосторожности

Тест должен проводиться опытным лабораторным персоналом с соответствующим образованием. Строго придерживайтесь инструкций по проведению анализа.

Стандартные растворы содержат фумонизин. Осторожно! Избегайте контакта реагентов с кожей (используйте перчатки).

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

Фумонизин светочувствителен, поэтому избегайте попадания на стандарты прямого света.

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 – кукурузная крупа и кукурузная мука могут непосредственно использоваться в тесте.

- взвесьте 5 г размельченной пробы и добавьте 25 mL 70 %-го метанола *)
 - гомогенизируйте пробу с помощью диспергатора или тщательно перемешивайте в течение 3 минут (вручную или с помощью шейкера)
 - профильтруйте экстракт через фильтровальную бумагу
 - разведите фильтрат в дистиллированной или деионизированной воде в соотношении 1:14 (1+13), например 100 μL экстракта + 1,3 mL дистиллированной воды
 - в тесте используют 50 μL разбавленного фильтрата на лунку
- *) Объем пробы может быть увеличен пропорционально раствору метанола/воды, например: 50 г в 250 mL 70 %-го метанола

10. Порядок проведения тестирования

10.1 Предварительные указания

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

Стандартные растворы фумонизина поставляются в готовом к работе виде. Фактор разбавления 70 для проб уже учтен на этикетке стандартных растворов. Поэтому концентрацию фумонизина в пробах можно считать непосредственно с калибровочной кривой.

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 для анализа в двух повторностях. Запишите положения лунок со стандартными растворами и пробами на планшете.

2 Добавьте по 50 μL стандартного или исследуемых (подготовленных по п. 9) растворов для анализа в двух повторностях в соответствующие лунки.

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

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

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. Заполните все лунки по 250 µL дистиллированной воды, и снова вылейте жидкость. Повторите процедуру промывки лунок еще два раза.

6 Добавьте по 100 µL раствора 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. После добавления стоп-реагента измерьте оптическую плотность в каждой лунке при 450 nm относительно воздуха в течение 10 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) фумонизина [ppm].

Концентрация (массовая доля) фумонизина в ppm соответствующая оптической плотности каждой пробы может быть считана по калибровочной кривой.

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.