



RIDASCREEN® Афлатоксин В1 30/15

Арт. No. R1211

Иммуноферментный анализ для количественного
определения афлатоксина В1

Анализ *in vitro*

Хранить при 2-8°C

Пожалуйста, обращайтесь по вопросам технической поддержки и дополнительной информации к официальным дистрибьюторам на территории Вашей страны:

**Официальный дистрибьютор
в России:**

ООО "НеоТест"

ул. Растопчина, 1Г, г. Владимир

+7 499 649 02 01

info@neo-test.ru

www.neo-test.ru

Техническая поддержка

support@neo-test.ru

+7 499 704 05 50



**Официальный дистрибьютор
в Беларуси:**

ОДО "КомПродСервис"

ул. Филимонова, 25Г, г. Минск

+375 17 336 50 54

info@komprod.com

www.komprod.com

Техническая поддержка

support@komprod.com

+375 17 336 50 54



RIDA® и RIDASCREEN®

являются зарегистрированными торговыми марками R-Biopharm AG.

Производитель: R-Biopharm AG, Дармштадт, Германия

R-Biopharm AG имеет сертификат ISO 9001.

RIDA® and RIDASCREEN®

are registered trademarks of R-Biopharm AG

Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

RIDASCREEN® Афлатоксин В1 30/15

Описание

RIDASCREEN® Aflatoxin B1 30/15 (Кат. № R1211) представляет собой набор для количественного определения афлатоксина В1 в злаках, кормах, сое и орехах методом конкурентного иммуноферментного анализа.

Все необходимые для иммуноферментного анализа реагенты, включая стандарты, входят в комплектацию набора.

Набор предназначен для 96 измерений (включая стандарты).

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

Пробоподготовка: Размельчение, экстракция, фильтрование и разбавление

Время выполнения: Подготовка проб (10 проб) – ок. 30 минут
Выполнение теста (время инкубации) – 45 мин

Предел обнаружения:
(соответствует стандартному веществу)
*список расширен на основе валидационного отчета R-biopharm

| | |
|--|-------------|
| Корм (репрезентативные образцы, например, корм для крупного рогатого скота/свиней/птицы/лошадей/кроликов)..... | 4 мкг/кг |
| Сухой кошачий корм..... | 2 мкг/кг |
| Кукуруза..... | 1,1 мкг/кг |
| Пшеница..... | 0,7 мкг/кг |
| Рожь..... | 1,0 мкг/кг |
| Овёс..... | 0,8 мкг/кг |
| Ячмень..... | 1,2 мкг/кг |
| Рис..... | 1,9 мкг/кг |
| Соя..... | 1,7 мкг/кг |
| Миндаль..... | 0,7 мкг/кг |
| Кешью..... | 0,9 мкг/кг |
| Фундук..... | 0,51 мкг/кг |
| Арахис..... | 1,1 мкг/кг |
| Фисташки..... | 1,3 мкг/кг |
| Грецкие орехи..... | 3,1 мкг/кг |

Скорость извлечения:
(соответствует стандартному веществу эталонных образцов загрязненной кукурузы)



ок. 93% средняя степень извлечения для естественно загрязненных эталонных материалов кукурузы

Специфичность:

| | |
|--------------------|----------|
| Афлатоксин В1..... | 100% |
| Афлатоксин В2..... | ок. 13% |
| Афлатоксин G1..... | ок. 29% |
| Афлатоксин G2..... | ок. 3.2% |
| Афлатоксин М1..... | ок. 1.5% |

Специфичность теста RIDASCREEN® Aflatoxin B1 30/15 определяли путем анализа перекрестной реактивности с соответствующими веществами в буферной системе. В образцах специфичность может отличаться от той, что определена в буферной системе, из-за эффектов матрицы. Перед анализом веществ с перекрестной реактивностью Вы должны определить предел обнаружения и степень извлечение вещества в соответствующей матрице образца. Тест не может различать аналиты и перекрестно-реактивные вещества.

Для повышения качества оценки при выполнении процедур ИФА мы дополнительно ссылаемся на наше Руководство по надлежащей практике ИФА (GEP) в соответствующей версии. В них перечислены минимальные стандарты, касающиеся базовых условий при использовании тест-наборов R-Biopharm AG и проведении ИФА-анализа. Руководство можно найти, распечатать и загрузить с веб-сайта официального дистрибьютора:

| | | |
|-------------------------|---|---|
| ООО «Неотест», РФ | https://neo-test.ru/wp-content/uploads/2021/10/prakticheskoe-rukovodstvo-ifa-rus.pdf |  |
| ОДО «КомПродСервис», РБ | https://komprod.com/wp-content/uploads/2021/10/prakticheskoe-rukovodstvo-ifa-rus.pdf |  |

1. Применение

RIDASCREEN® Aflatoxin B1 30/15 представляет собой тест-систему для количественного определения афлатоксина В1 в злаках, кормах, сое и орехах методом конкурентного иммуноферментного анализа.

2. Общая информация

Афлатоксины являются вторичными метаболитами плесневых грибов рода *Aspergillus flavus*, *parasiticus* и *nomius*. Эти грибы встречаются во влажных тропических областях, контаминация растительных продуктов питания происходит в странах культивирования. Афлатоксины относятся к сильнейшим канцерогенным веществам природного происхождения.

Афлатоксин В1, который почти всегда встречается вместе с Афлатоксинами В2, G1 и G2, это аналит с наибольшей токсической значимостью. Обычно его находят в кукурузе, арахисе, бразильских орехах, хлопковом семени и фисташках.

3. Принцип метода

В основе теста – реакция взаимодействия антигенов с антителами. Лунки стрипов микротитровального планшета покрыты антителами захвата,

направленными против анти-афлатоксиновых антител. Добавляются растворы стандартов или образцов, ферментный конъюгат афлатоксина и анти-афлатоксиновые антитела. Свободный афлатоксин и афлатоксин ферментного конъюгата конкурируют за центры связывания афлатоксиновых антител (конкурентный иммуноферментный анализ). Одновременно анти-афлатоксиновые антитела тоже связываются иммобилизованными антителами захвата. Несвязавшийся ферментный конъюгат затем удаляется в процессе промывки. Далее в лунки планшета добавляется субстрат/хромоген. Связавшийся ферментный конъюгат преобразует хромоген в конечный продукт голубого цвета. Добавление стоп-раствора приводит к изменению цвета с голубого на жёлтый. Измерение проводится фотометрически при 450 нм. Оптическая плотность раствора в лунках обратно пропорциональна концентрации афлатоксина в пробе.

4. Предоставляемые реагенты

Каждый набор содержит достаточное количество материалов для 96 анализов, включая стандартные образцы. Каждый тестовый набор содержит:

| Компонент | Цвет крышки | Формат | Объём |
|--|-------------|-----------------------|--------------------|
| Микротитрационный планшет К | - | Готов к использованию | 96 лунок |
| Стандарт 1* | Белый | Готов к использованию | 0 мкг/л 1,3 мл |
| Стандарт 2* | Белый | Готов к использованию | 1 мкг/л 1,3 мл |
| Стандарт 3* | Белый | Готов к использованию | 5 мкг/л 1,3 мл |
| Стандарт 4* | Белый | Готов к использованию | 10 мкг/л 1,3 мл |
| Стандарт 5* | Белый | Готов к использованию | 20 мкг/л 1,3 мл |
| Стандарт 6* | Белый | Готов к использованию | 50 мкг/л 1,3 мл |
| Солевой промывочный буфер Твин | | Соль для растворения | |
| Конъюгат | Красный | Готов к использованию | 6 мл |
| Антитела | Чёрный | Готов к использованию | 6 мл |
| Субстрат/Хромоген Red Chromogen Pro | Коричневый | Готов к использованию | 10 мл |
| Стоп-реагент | Жёлтый | Готов к использованию | 14 мл |

*В указанных концентрациях учтён фактор разбавления - 10, который следует из процедуры пробоподготовки. Поэтому концентрации афлатоксина В1 в образцах можно определять непосредственно по калибровочной кривой.

5. Необходимые, но не предоставленные материалы

5.1. Оборудование:

- ИФА-анализатор (ридер) с фильтром на 450 нм
- градуированный цилиндр (пластиковый или стеклянный), 100мл
- для пробоподготовки: стеклянные фильтровальная воронка и колба (50 мл)
- лабораторная мельница
- лабораторный шейкер (дополнительно)
- фильтровальная бумага: Whatman No.1 или аналог.
- градуированные пипетки
- микропипетки на 20 мкл – 200 мкл и 200 мкл – 1000 мкл

5.2. Реагенты:

- метанол (70 %): смешать 70 мл метанола (100 %) с 30 мл дистиллированной или деионизированной воды
- дистиллированная или деионизированная вода

6. Меры предосторожности для пользователей

Стандартные растворы содержат афлатоксин В1, при работе необходимо соблюдать особые меры предосторожности. Избегайте контакта реагентов с кожей (используйте перчатки).

Деконтаминацию стеклянной посуды и растворов, содержащих токсины, лучше всего проводить, используя 10 % (v/v) раствор гипохлорита натрия. Соляной кислотой доведите pH раствора гипохлорита до 7, погрузите в раствор загрязненную посуду и оставьте на ночь.

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

Этот комплект может содержать опасные вещества. Примечания об опасности содержащихся веществ см. в соответствующих паспортах безопасности материалов (MSDS) для этого продукта, доступных онлайн на сайте www.r-biopharm.com.

7. Инструкции по хранению

Храните набор при температуре 2 - 8 °C (35 - 46 °F). Не замораживайте компоненты набора.

Неиспользованные микролунки поместите в оригинальную упаковку из фольги и герметично закройте её вместе с прилагаемым осушителем. Храните при 2 – 8°C (35 - 46 °F).

Афлатоксин В1 светочувствителен, поэтому избегайте попадания прямого света на стандартные растворы и экстракты.

Раствор субстрата/хромогена светочувствителен, поэтому избегайте попадания на него прямого света.

По истечении срока годности, указанного на этикетке, гарантия качества 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 ещё до проведения тестирования

- Значение оптической плотности в лунке с нулевым стандартом ниже 0,6 ($A_{450 \text{ нм}} < 0,6$)

9. Подготовка образцов

9.1. Злаки, корма, соя

Пробы должны храниться в прохладном тёмном месте.

Предоставленную пробу (отобранную в соответствии с официальными предписаниями) перед экстракцией необходимо измельчить и перемешать.

- Взвесьте 5 г измельчённой пробы, поместите в подходящую посуду и добавьте 25 мл 70%-го метанола *)

- Тщательно перемешивайте в течение 3 мин (вручную или на шейкере)

- Профильруйте экстракт через фильтровальную бумагу Whatman No.1 (или эквивалент) или центрифугируйте (10 мин/3500 g/комнатная температура

- 1 мл фильтрата разведите в 1 мл дистиллированной или деионизированной воды

- Для тестирования используйте 50 мкл разведённого фильтрата на лунку

*) Объём пробы может быть увеличен пропорционально объёму раствора метанола/воды, например 10 г в 50 мл 70%-го метанола

Примечание:

Если предположительно в образце будет высокая концентрация афлатоксина, то необходимо дальнейшее разбавление. Пожалуйста, обратите внимание, что готовые к работе образцы должны быть в растворе метанола в воде (35/65)!

9.2. Орехи (фундук, миндаль, грецкие орехи, кешью, арахис, фисташки)

Реагенты:

Метанол (70 %): для приготовления 1 л реагента смешивают 700 мл метанола ч.д.а. и 300 мл деминерализованной воды.

Процедура:

- Взвесьте 5 г измельченного образца в пробирку 50 мл.

- Добавьте 2,5 г NaCl к измельченной пробе.

- Добавьте 25 мл 70 % (об./об.) метанола.

- Экстрагируйте путем перемешивания (например, переворачивание) 10 мин при комнатной температуре.

- Центрифугируйте 15 мин (3000 g) при комнатной температуре.
- Удалите верхний слой жира (например, путем аспирации пипеткой Пастера, подключенной к вакуумному насосу).
- Дополнительно отфильтруйте экстракт через бумажный фильтр Whatman №1 для очистки супернатанта.
- Разбавьте прозрачный супернатант 1:2 (1+1) деминерализованной водой, хорошо перемешайте.
- Используйте 50 мкл разведенного образца на лунку для анализа.

10. Проведение теста

10.1. Предварительные указания

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

Стандартные растворы афлатоксина В1 поставляются в готовом к использованию виде. Концентрация стандартных растворов, приведенная на этикетках, дана с учётом фактора разбавления 10, таким образом, концентрацию афлатоксина В1 можно учитывать непосредственно по стандартной кривой.

Для приготовления моющего буфера (фосфатно-солевой буфер с твином) растворите содержимое прилагаемого пакетика буферной соли (см. п. 4) в 1 л дистиллированной воды. Готовый моющий буфер может храниться при 2 – 8° C в течение 4-6 недель.

Альтернатива: Растворите содержимое пакетика в 100 мл дистиллированной воды (10-ти кратный концентрат). Этот раствор может храниться около 8-12 недель при комнатной температуре (20-25 °C).

Для получения готового к работе моющего буфера, растворите одну часть 10-ти кратного концентрата в 9 частях дистиллированной воды.

10.2. Процедура анализа

Внимательно следуйте рекомендованной процедуре промывки. В процессе выполнения анализа не допускайте высыхания микролунок.

1. Вставьте в рамку планшета микролунок в количестве, достаточном для всех стандартов и исследуемых растворов. Запишите расположение лунок со стандартами и исследуемыми растворами.

2. Добавьте пипеткой по 50 мкл стандартов или исследуемых растворов в соответствующие лунки. Для каждого образца или стандарта используйте новые наконечники.

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

4. Добавьте в лунки по 50 мкл раствора анти-афлатоксиновых антител (чёрная крышка). Перемешайте, осторожно вращая планшет рукой, и оставьте на инкубацию при комнатной температуре (20 - 25 °С) в течение 30 минут (+/- 1).

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 250 мкл моющего буфера (см. 10.1). Снова вылейте жидкость из лунок и тщательно выбейте капельки жидкости. Повторите промывку ещё два раза.

6. Добавьте по 100 мкл раствора субстрата/хромогена (коричневая крышка) в каждую лунку. Перемешайте, осторожно вращая планшет рукой, и оставьте на инкубацию при комнатной температуре (20 - 25°С) в течение 15 минут (+/- 1) в темноте.

7. Добавьте в каждую лунку по 100 мкл стоп-раствора (жёлтая крышка). Перемешайте, осторожно вращая планшет рукой. Измерьте оптическую плотность при 450 нм в течение 15 минут после добавления стоп-раствора.

11. Результаты

Для обработки результатов иммуноферментного анализа с помощью тест-систем RIDASCREEN® имеется специальное программное обеспечение RIDA® SOFT Win (Артикул № Z9996).

Для единичных измерений мы рекомендуем использовать logit/log оценку результатов, а для двойных и множественных определений следует использовать cubic spline.

Пример стандартной кривой дан в сертификате на тест-систему.

Примечание для расчета без программного обеспечения:

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

Нулевой стандарт приравнивается, таким образом, к 100%, а величины оптической плотности указываются в процентах. По величинам относительной оптической плотности, вычисленным для стандартных растворов, и соответствующим значениям концентрации афлатоксина В1 в мкг/кг строится калибровочная кривая в полулогарифмической системе координат.

Концентрация афлатоксина В1 в мкг/кг (ppb) считывается по калибровочной кривой соответственно относительному поглощению каждой пробы.

Данные соответствуют нашему нынешнему состоянию технологий и предоставляют информацию о наших продуктах и их использовании. R-Biopharm не дает никаких гарантий, явных или подразумеваемых, за исключением того, что материалы, из которых изготовлены ее продукты, имеют стандартное качество. Дефектные продукты будут заменены. Нет никаких гарантий товарной пригодности этого продукта или пригодности продукта для каких-либо целей. Р-Биофарм не несет ответственности за любой ущерб, в том числе фактический или косвенный ущерб, или расходы, возникшие прямо или косвенно от использования этого продукта.