



RIDASCREEN® FAST Афлатоксин M1

Арт. No. R5812

Иммуноферментный анализ для количественного
определения афлатоксина M1

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® FAST Афлатоксин М1

Описание

RIDASCREEN®FAST Aflatoxin M1 (Артикул: R5812) – это конкурентный иммуноферментный анализ для количественного определения афлатоксина М1 в молоке, йогурте, кефире, сметане и сухом молоке. Все реагенты, необходимые для иммуноферментного анализа – в том числе стандарты – содержатся в наборе.

Набора достаточно для 48 определений (включая стандарты).



Для количественного определения необходим спектрофотометр

Пробоподготовка: Центрифугирование

Время выполнения: Подготовка проб (10 проб).....ок. 15 мин
Проведение теста (время инкубации)..... 15 мин

Предел обнаружения: Молоко.....< 125 нг/л
(соответствует стандартному Сухое молоко.....< 125 нг/л
веществу) Йогурт, кефир, сметана.....< 125 нг/л

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® FAST Aflatoxin M1 - это конкурентный иммуноферментный анализ для количественного анализа афлатоксина М1 в молоке, йогурте, кефире, сметане и сухом молоке.

2. Общая информация

Афлатоксины являются вторичными метаболитами грибов видов *Aspergillus flavus*, *parasiticus* и *nomius*. Афлатоксин М 1 образуется в результате метаболизма афлатоксина В 1. Афлатоксин М 1 не разрушается в процессе пастеризации, следовательно, требуется всеобъемлющая проверка молочного сырья и конечных продуктов. С 1 января 1999 г действуют единые для всех стран ЕС пределы содержания афлатоксинов. Для афлатоксина М1 установлен предел 0,05 пг/л (50 ppt).

3. Принцип метода

В основе процедуры анализа лежит взаимодействие антигенов с антителами. Поставляемый в комплекте набора планшет сенсibilизирован антителами, направленными против антител к афлатоксину М 1. Исследуемые и стандартные образцы, конъюгат (афлатоксин, конъюгированный с пероксидазой хрена), анти-афлатоксиновые антитела дозируются в лунки активированного планшета. Свободный афлатоксина М1 и афлатоксин М1 конъюгата конкурирует за сайты связывания анти-афлатоксиновых антител (конкурентный иммуноферментный анализ). В то же время антитела против афлатоксина М1 связываются с антителами иммобилизованными на поверхности лунок. Любой несвязанный ферментный конъюгат удаляют на стадии промывки. В лунки добавляют субстрат/хромоген, связанный ферментный конъюгат превращает хромоген в окрашенный продукт. Добавление стоп-раствора приводит к изменению цвета с синего на желтый. Измерение производится фотометрически на длине волны 450 нм. Оптическая плотность пробы обратно пропорциональна концентрации афлатоксина М1 в образце.

4. Предоставляемые реагенты

Каждый набор содержит достаточно реагентов для проведения 42 анализов (плюс 6 анализов стандартов). Каждый набор содержит:

Компонент	Цвет крышки	Формат	Объем
Микротитрационный планшет, покрытый антителами	-	Готов к использованию	48 лунок (6 стрипов по 8 лунок)
Стандарт 1		Готов к использованию	0 н/л 1,3 мл

Стандарт 2		Готов к использованию	125 нг/л	1,3 мл
Стандарт 3		Готов к использованию	250 нг/л	1,3 мл
Стандарт 4		Готов к использованию	500 нг/л	1,3 мл
Стандарт 5		Готов к использованию	1000 нг/л	1,3 мл
Стандарт 6		Готов к использованию	2000 нг/л	1,3 мл
Конъюгат	Красный	Готов к использованию		3 мл
Антитела	Черный	Готов к использованию		3 мл
Солевой промывочный буфер Твин		Раствор соли	-	
Субстрат/Хромоген Red Chromogen Pro	Коричневый	Готов к использованию		10 мл
Стоп-реагент	Жёлтый	Готов к использованию		14 мл

5. Необходимые, но не предоставленные материалы

5.1. Оборудование:

- планшетный спектрофотометр (450 нм);
- центрифуга;
- градуированные пипетки;
- микропипетки на 20 – 200 мкл и 200 – 1000 мкл.

6. Меры предосторожности для пользователей

Тест должен проводиться только обученными сотрудниками лаборатории. Необходимо строго соблюдать инструкцию по применению.

В стандартах содержится афлатоксин М 1, следует соблюдать особую осторожность. Избегайте контакта реагента с кожей (используйте перчатки).

Обеззараживание стеклянной посуды и растворов афлатоксина лучше всего проводить с помощью раствора гипохлорита натрия (отбеливателя) (10% об./об.) в течение ночи (довести раствор с помощью HCl до pH 7).

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

7. Инструкции по хранению

Храните набор при температуре 2– 8 °С. Не замораживайте компоненты набора.

Верните неиспользованные стрипы в оригинальный пакет из фольги, снова запечатайте пакет вместе с прилагаемым влагопоглотителем и храните при температуре 2–8 °С.

Избегайте воздействия прямого света на раствор субстрат/хромоген.

По истечении срока годности набора гарантия качества не действует (см. этикетку на наборе).

Набор можно использовать регулярно, по крайней мере, до истечения срока годности (указанного на упаковке набора) при правильном хранении.

Не смешивайте реагенты от разных партий.

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

Образцы следует хранить в прохладном, защищенном от света месте.

9.1. Молоко

- центрифугирование образцов молока для обезжиривания: 10 мин/ 3500 g/10° С (если центрифуга с охлаждением недоступна, то перед центрифугированием охладите образец до 10°С;

- после центрифугирования полностью удалите верхний слой сливок путем аспирации с помощью пипетки Пастера;

- используйте обезжиренное молоко (обезжиренный супернатант) непосредственно в тесте (50 мкл на лунку).

9.2. Сухое молоко

- взвесьте в колбе 10 г сухого молока и залейте деионизированной водой до 100 мл *);

- растворите сухое молоко при перемешивании в течение 5 мин;

- продолжить приготовление молока, как описано в 9.1.

* - количество образца может быть увеличено при пропорциональном увеличении объема воды.

9.3. Йогурт, кефир, сметана

- Взвесьте 10 г образца.

- Добавьте 10 мл дистиллированной воды. Количество воды можно изменять при необходимости, пропорционально изменению количества образца, сохраняя соотношение образца и воды.

- Перемешайте образец.

- Центрифугируйте образец 10 мин/3500 g/10 °С. Низкая температура центрифугирования необходима для отделения жирной фракции. Если центрифуга с охлаждением недоступна, охладите образец до 10 °С перед центрифугированием.

- После центрифугирования полностью удалите верхний слой сливок с помощью пипетки Пастера.
- Перенесите аликвоту (например, 0,1 мл) водной фазы в чистую реакционную пробирку.
- Добавьте такой же объем (например, 0,1 мл) буфера для промывки.
- Перемешайте образец.
- Проверьте pH пробы и при необходимости доведите pH до 6,5–7,5.
- Для последующего анализа используйте 100 мкл раствора на лунку.

10. Проведение теста

10.1. Предварительные комментарии

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

2. Специфическая реакция начинается с добавления специфических антител. При использовании одноканального дозатора рекомендуется одновременно использовать не более трех стрипов.

3. Не использованные реагенты храните при 2–8 °C.

В качестве промывочного буфера необходим твин-буфер PBS. Используйте промывочный буферный раствор (см. 4.), входящий в набор. Растворите всю соль в одном литре дистиллированной воды. Срок годности готового к использованию промывочного буфера составляет прилб. 4-6 недель при 2-8 C .

Или растворите содержимое пакета в 100 мл дистиллированной воды, чтобы получить 10-кратный промывочный буфер: 1 часть концентрата необходимо растворить в 9 частях дистиллированной воды, чтобы получить готовый к использованию промывочный буфер.

Срок годности 10-кратного концентрата прилб. 8–12 недель, хранить при комнатной температуре (20–25 C).

10.2. Тестовая процедура

Не допускайте полного высыхания микролунок и избегайте длительных интервалов между рабочими этапами. Воспроизводимость в любом ИФА во многом зависит от тщательности процедуры промывки лунок. Тщательно следуйте рекомендованной последовательности промывки, как указано в инструкции.

Во время инкубации избегайте попадания прямых солнечных лучей на реагенты. Для этого закрывайте микротитровальные планшеты.

1. Вставьте достаточное количество лунок в держатель микролунок. Запишите позиции стандартов и образцов.

2. Внесите пипеткой 50 мкл стандартного или приготовленного образца в отдельные лунки; используйте новый наконечник пипетки для каждого стандарта или образца.

3. Добавьте 50 мкл ферментного конъюгата (красная крышка) в каждую лунку.

4. Добавьте 50 мкл раствора антитела против афлатоксина М1 (черная крышка) в каждую лунку. Осторожно перемешайте, встряхивая планшет вручную, и инкубируйте в течение 10 минут (+/- 1) при комнатной температуре (20–25° С).

5. Слейте жидкость из лунок в раковину. Выбейте оставшуюся воду из лунок, перевернув их вверх дном и постукивая лунками о чистое фильтровальное полотенце (три раза подряд). Используя многоканальную пипетку, заполните лунки (250 мкл на лунку) промывочным буфером (см. 10.1.). Снова опорожните лунки и удалите всю оставшуюся жидкость. Повторите этап промывки еще два раза.

6. Добавьте 100 мкл субстрата/хромогена (коричневая крышка) в каждую лунку. Осторожно перемешайте, встряхивая планшет вручную, и инкубируйте в течение 5 минут (+/- 0,5) при комнатной температуре (20–25 ° С) в темноте.

7. Добавьте 100 мкл стоп-раствора (желтая крышка) в каждую лунку. Осторожно перемешайте, встряхивая планшет вручную, и измерьте оптическую плотность при 450 нм в течение 10 минут.

11. Результаты

Для обработки результатов иммуноферментного анализа с помощью тест-систем RIDASCREEN® используется 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. Обработка результатов анализа без использования программного обеспечения:

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

Таким образом, нулевой стандарт приравнивается к 100%, а значения оптической плотности указаны в процентах. Значения, рассчитанные для стандартов, вводят в систему координат на полулогарифмической миллиметровой бумаге относительно концентрации афлатоксина М1 (нг / л).

Чтобы получить концентрацию афлатоксина М1 в нг/л (ppt), фактически содержащуюся в образце, концентрацию, считанную с калибровочной кривой,

необходимо дополнительно умножить на соответствующий коэффициент разбавления.

При работе в соответствии с указанными правилами коэффициенты разбавления следующие:

Молоко – 1;

Сухое молоко (относится к восстановленному молоку) – 1;

Сухое молоко (относительно веса в граммах) – 10;

Йогурт, кефир, сметана – 4.

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. R-Биофарм не несет ответственности за любой ущерб, в том числе фактический или косвенный ущерб, или расходы, возникшие прямо или косвенно от использования этого продукта.