



RIDASCREEN® FAST ДОН

Арт. No. R5901 (96 лунок)

Арт. No. R5902 (48 лунок)

Иммуноферментный анализ для количественного определения деоксиниваленола



Federal Grain Inspection Services
CERTIFICATE NO. FGIS 2002 - 105

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 DON

Описание

RIDASCREEN®FAST DON (Кат. №: R5901, 96 лунок / Кат. №: R5902, 48 лунок) представляет собой тест-систему для количественного определения деоксиниваленола в зерне, солоде и кормах методом конкурентного иммуноферментного анализа. Матрицы пшеницы, ячменя, солодового ячменя, овса и кукурузы одобрены и утверждены Научно-исследовательским институтом AOAC в соответствии с Программой испытаний с проверкой производительности и FGIS (Федеральная служба по инспекции зерновых) программы управления зерновой инспекцией, упаковщиками и складами Министерства сельского хозяйства США (USDA/GIPSA).

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

Набор предназначен для 96 или 48 измерений (включая стандарты).

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

Пробоподготовка:	Экстракция, фильтрование
Время выполнения:	Подготовка проб (10 проб).....ок. 10 мин Проведение теста (время инкубации).....8 мин
Предел обнаружения: (соответствует стандартному веществу)	Ячмень.....119 мкг/кг Кукуруза.....34 мкг/кг Овёс.....51 мкг/кг Рожь.....77 мкг/кг Пшеница.....76 мкг/кг Корма.....1064 мкг/кг Солод.....102 мкг/кг
Предел количественного определения:	Овёс.....0,36 мг/кг Остальные матрицы.....0,2 мг/кг
Степень извлечения: (соответствует стандартному веществу эталонных образцов загрязненной кукурузы)	Ячмень.....92% Кукуруза.....104% Солод.....96% Овёс.....115% Пшеница.....109%

Сопутствующие товары

RIDASCREEN® FAST DON SC (R5905)

RIDASCREEN®DON (R5906)

RIDA®QUICK DON (R5904)

TRILOGY® Liquid Standard DON (TAS-M21LM2-10 / TSL-317)

TRILOGY® Dried Standard DON (TAS-M21DM1-10 / TS-310)
TRILOGY® Dried Standard DON (TAS-M21DM2-10 / TS-317)

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

RIDASCREE®FAST DON представляет собой тест-систему для количественного определения дезоксиниваленола в зерне, солоде и кормах методом конкурентного иммуноферментного анализа.

2. Общая информация

Деоксиниваленол принадлежит к группе микотоксинов – трихотеценов и продуцируется грибами рода *Fusarium*. Деоксиниваленол часто выявляется в растительной продукции, особенно в злаках. Из всех трихотеценовых микотоксинов деоксиниваленол, 3-ацетил- и 15- ацетилдеоксиниваленол этотоксины, наиболее часто встречаются в Европе и Северной Америке. Концентрации токсинов, выявленные в пшенице,

кукурузе или рисе часто достигают ppm пределов. Из-за своей высокой цитотоксичности и иммуносупрессивных свойств, эти токсины очень опасны для здоровья людей и животных.

3. Принцип метода

В основе теста лежит принцип реакции взаимодействия антиген- антитело. Лунки микротитровального планшета покрыты антителами захвата, направленными против анти-деоксиниваленоловых антител. Добавляются растворы образцов или стандарты деоксиниваленола, ферментный конъюгат деоксиниваленола и анти-деоксиниваленоловые антитела. Свободный деоксиниваленол и ферментный конъюгат деоксиниваленола конкурируют за места связывания деоксиниваленоловых антител (конкурентный

иммуноферментный анализ). В то же время анти- деоксиниваленоловые антитела также связываются с иммобилизованными захватывающими антителами. Несвязавшийся ферментный конъюгат удаляется при промывке. После чего, в лунки добавляют раствор Хромогена/Субстрата и инкубируют. Связанный ферментный конъюгат превращает бесцветный хромоген в конечный продукт голубого цвета. Добавление стоп-реагента вызывает изменение окраски из голубой в жёлтую. Измерение выполняется фотометрически при длине волны 450 нм. Полученные значения абсорбции обратно пропорциональны концентрации деоксиниваленола в образце.

4. Предоставляемые реагенты

Каждая тест-система содержит достаточное количество материалов для 91 анализа (R5901) или 43 анализов (R9052) (плюс 5 стандартов). Каждая тест-система содержит:

Компонент	Цвет крышки	Формат		Объём
Микротитровальный планшет М	-	Готов к использованию		96 лунок (R5901) 48 лунок (R5902)
Стандарт 1*	Белый	Готов к использованию	0 мг/л	1,3 мл
Стандарт 2*	Белый	Готов к использованию	0,222 мг/л	1,3 мл
Стандарт 3*	Белый	Готов к использованию	0,666 мг/л	1,3 мл
Стандарт 4*	Белый	Готов к использованию	2 мг/л	1,3 мл
Стандарт 5*	Белый	Готов к использованию	6 мг/л	1,3 мл
Солевой промывочный буфер Твин		Раствор соли	-	
Конъюгат	Красный	Готов к использованию		6 мл (R5901) 3 мл (R5902)
Антитела	Чёрный	Готов к использованию		6 мл (R5901) 3 мл (R5902)
Субстрат/Хромоген Red Chromogen Pro	Коричневый	Готов к использованию		10 мл
Стоп-реагент	Жёлтый	Готов к использованию		14 мл

*) Фактор разведения для образцов – 20, учитывается автоматически при построении калибровочной кривой. Концентрацию деоксиниваленола в исследуемых образцах считают 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, 1 л.

- для пробоподготовки: стеклянная фильтровальная воронка и колба (50 мл)
- лабораторная мельница
- лабораторный шейкер (дополнительно)
- гомогенизатор универсальный Ultra Turrex (или аналогичный) (дополнительно)
- фильтровальная бумага: Whatman No.1 или аналог.
- дозаторы автоматические на 20 мкл – 200 мкл и 200 мкл – 1000 мкл.

5.2. Реагенты:

- дистиллированная или деионизированная вода.

6. Меры предосторожности для пользователей

К выполнению измерений допускают специалистов, владеющих техникой постановки иммуноферментного анализа и освоивших метод в процессе стажировки. При постановке анализа необходимо строго следовать настоящей Инструкции.

Стандартные растворы содержат деоксиниваленол, поэтому при работе необходимо соблюдать особые меры предосторожности, избегать контакта реагентов с кожей (использовать перчатки).

Деконтаминация стеклянной посуды и растворов, содержащих токсины, проводится с использованием 10 % (v/v) раствора гипохлорита натрия. Соляной кислотой доводится pH раствора гипохлорита до 7, погружается в раствор загрязненная посуда и оставляется на ночь.

Тест-система может содержать опасные вещества. Для информации о рисках, связанных с содержащимися в ней компонентами, обратитесь к соответствующим документам по безопасности компонентов (MSDS), доступным в сети Интернет по ссылке www.r-biopharm.com.

7. Инструкции по хранению

Храните комплект при 2-8 °C (35 - 46°F). Не замораживайте компоненты тест-системы.

Поместите неиспользованные микролунки в их оригинальную упаковку из фольги, герметично закройте ее вместе с прилагаемым осушителем, храните при температуре 2 - 8 °C (35 - 46°F).

Красноватый раствор субстрат/хромогена чувствителен к свету, поэтому избегайте воздействия 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. Разбавление или фальсификация этих реагентов может привести к потере чувствительности.

Компоненты тест-системы можно регулярно использовать, по крайней мере, до даты истечения срока годности (указано на этикетке тест-системы), если он хранится правильно.

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 0,8 ($A_{450 \text{ нм}} < 0,8$)

9. Подготовка образцов

Пробы должны храниться в прохладном темном месте.

Перед началом анализа доведите все реагенты и образцы до комнатной температуры (20-25 ° C / 68 - 77 ° F).

Предоставленную пробу (отобранную в соответствии с действующими техническими нормативными правовыми актами в установленном порядке) перед экстракцией необходимо измельчить и перемешать.

- Взвесьте 5 г измельченной пробы, поместите в подходящую емкость и добавьте 100 мл дистиллированной воды *)

- Тщательно гомогенизируйте подготовленный образец в течение двух минут или энергично встряхните в течение трех минут (вручную или на шейкере);.

- Профильтруйте экстракт через бумажный фильтр Whatman No.1 (или аналог).

- Для анализа используйте 50 мкл фильтрата на лунку.

*) Объем пробы может быть увеличен пропорционально объёму дистиллированной воды, например 25 г в 500 мл дистиллированной воды или 50 г в 1000 мл дистиллированной воды.

Метод извлечения USDA / GIPSA

- Взвесьте 50 г измельченной пробы, поместите в подходящую емкость, добавьте 250 мл дистиллированной воды;

- Тщательно гомогенизируйте подготовленный образец в течение двух минут или энергично встряхните в течение трех минут (вручную или на шейкере);

- Профильтруйте экстракт через бумажный фильтр Whatman No.1 (или аналог)

- Разведите фильтрат дистиллированной водой в соотношении 1:4 (1+3) (1 мл фильтрата+3 мл дистиллированной воды)

- Для анализа используйте 50 мкл разведённого фильтрата на лунку.

10. Проведение теста

10.1. Предварительные указания

1. Перед началом анализа доведите все реагенты тест-системы до комнатной температуры (20-25 °C / 68 - 77 °F).

2. Реакция начинается с внесения специфических антител. В связи с этим, при использовании одноканального дозатора для постановки анализа необходимо использовать не более трех стрипов одновременно. При использовании многоканального дозатора возможно использование большего количество стрипов (до 6).

3. После использования все реагенты необходимо хранить при температуре 2 - 8°C (35 - 46 °F).

Стандартные растворы деоксиниваленола предоставляется готовым к использованию. Фактор разведения для образцов – 20, учитывается автоматически. Концентрацию деоксиниваленола в исследуемых образцах считают непосредственно по калибровочной 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 (36 - 46 °F) в течение 4-6 недель.

Альтернативно. 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 / 68 - 77°F). 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.

Избегайте попадания прямых солнечных лучей во время всех инкубаций. Во время инкубации микротитровальные планшеты необходимо накрывать во избежание испарения жидкости из лунок.

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

2. Внесите 50 мкл стандартов или исследуемых проб в соответствующие лунки. Для каждого образца или стандарта используйте новые наконечники.

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

4. Внесите в лунки по 50 мкл раствора антител (чёрная крышка). Перемешайте осторожными круговыми движениями, и инкубируйте при комнатной температуре (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) в течение 5 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 еще два раза.

6. Добавьте по 100 мкл раствора субстрата/хромогена (коричневая крышка) в каждую лунку. Перемешайте осторожными круговыми движениями, инкубируйте при комнатной температуре (20 - 25°C / 68 - 77 °F)

в течение 3 минут (+/- 0,5) в темноте.

7. Добавьте в каждую лунку по 100 мкл стоп-раствора (жёлтая крышка). Перемешайте осторожными круговыми движениями. Измерьте оптическую плотность при 450 нм в течение 10 минут после добавления стоп-раствора.

11. Результаты

Обработка результатов иммуноферментного анализа с использованием тест-систем RIDASCREEN® проводится с использованием специального программного обеспечения RIDA® SOFT Win .net (Артикул № Z9996).

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

Пример калибровочной кривой представлен в сертификате на тест-систему.

Обработка результатов анализа без использования программного обеспечения:

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

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 деоксиниваленола в мг/кг строится калибровочная кривая в полулогарифмической системе координат.

Концентрация деоксиниваленола в мг/кг считается по калибровочной кривой соответственно относительной абсорбции для каждой пробы.

12. Предел обнаружения и предел количественного определения

Предел обнаружения был определен на основании данных исследования чистой (пустой) пробы различных матриц (n=10) как:

Предел обнаружения (LOD)=значение концентрации+2 × стандартное отклонение.

Предел количественного определения был рассчитан как:

Предел количественного определения (LOQ) = значение концентрации+10 × стандартное отклонение

Значение(ppb), n=10	Пшеница	Ячмень	Солод	Овес	Кукуруза
Значение концентрации	26,3	4,6	30,7	78,0	27,6
Стандартное отклонение (S.d.)	14,1	3,8	15,9	28,2	11,5
LOD	54	12	62	134	51
LOQ	167	42	190	360	143

Предел обнаружения (LOD) был установлен на уровне ниже 0,2 мг/кг (ppm).

Предел количественного определения был установлен на уровне 0,2 мг/кг (ppm) (для овса - 0,36 мг/кг (ppm)).

13. Специфичность

1. Время, необходимое для выполнения анализа (инкубация): 8 минут.
2. Диапазон измерения: 0,2 – 6,0 мг/кг (ppm)/
3. Утвержденные матрицы: пшеница, ячмень, солодовый ячмень, овес, кукуруза.
4. Дополнительно валидированные матрицы: пшеничная мука, пшеничная майда, пшеничные отруби, сорго, соевые хлопья, соевая мука, комбикорма
5. Специфичность: тест-система обладает высокой перекрестной реактивностью между DON и 3-ацетил-DON (перекрестная реактивность: 213%) и имеет низкую перекрестную реактивность или ее отсутствие к другим родственным веществам этой группы, таким как ниваленол, 15-ацетил-DON, триацетил-DON, Триацетил- ниваленол, тетраацетил-ДОН и фузаренон Х.

Данные о достоверности и точности исследований образцов пшеницы с внесенной добавкой

Значение внесенной добавки, ppm	0,5	1,0	2,5	5,0
Полученное значение, ppm	0,53	1,0	2,4	4,1
S.d. (ppm)	0,1	0,22	0,24	0,44

Данные о сравнительных испытаниях образцов пшеницы методами ИФА и ВЭЖХ (референсный метод)

ИФА (n=30)	Полученное значение, ppm	0,84	4,02	2,30
	S.d. (ppm)	0,16	0,33	0,15
ВЭЖХ (n=5)	Полученное значение, ppm	0,6	3,88	2,28
	S.d. (ppm)	0,12	0,50	0,16

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.