



RIDASCREEN® ДОН

Арт. No. R5906

Иммуноферментный анализ для количественного определения дезоксиниваленола

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® DON

Описание

Набор RIDASCREEN® DON (Кат. №R5906) это конкурентный ферментный иммуноанализ для количественного определения дезоксиниваленола в солоде, кормах, пиве, сусле и злаках (пшеница, ячмень, овес, рожь, сорго).

Все, необходимые для ферментного иммуноанализа реагенты, включая стандарты, поставляются в составе тестового набора.

Набор предназначен для 96 определений (включая стандарты).

Для количественного учёта результатов необходим планшетный спектрофотометр. Для выполнения тестирования набором RIDASCREEN® DON не требуется специального тренинга для персонала лаборатории, но, при необходимости, тем не менее, по запросу может быть предложена бесплатная поддержка со стороны дистрибьютора.

Пробоподготовка:	злаки, солод, корма: экстракция, фильтрация пиво: удаление CO ₂ сусло: нет специальной подготовки
Время выполнения:	Подготовка проб (10 проб): злаки, солод и корма.....ок. 10 мин пиво.....ок. 5 мин сусло.....нет Проведение теста (время инкубации).....45 мин
Предел обнаружения: (соответствует стандартному веществу)	Злаки, солод, корма.....18,5 мкг/кг Пиво, сусло.....3,7 мкг/кг
Перекрёстная реактивность:	Деоксиниваленол.....100% 3-Ацетилдеоксиниваленол.....>100% 15- Ацетилдеоксиниваленолок. 19 % Ниаленол ок. 4 % Фузаренон Х.....<1% Т-2 Токсин.....<1%

Специфичность набора RIDASCREEN® DON была определена при анализе перекрёстной реактивности с соответствующими микотоксинами.



Сопутствующие продукты

RIDASCREEN®FAST DON (Art.No. R5901/R5902)

RIDASCREEN®FAST DON SC (Art.No. R5905)

RIDA®QUICK DON (Art.No. R5904)

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

Набор RIDASCREEN® DON это конкурентный ферментный иммуноанализ для количественного определения ДОН в злаках, солоде, кормах пиве и сусле.

2. Общая информация

Дезоксиниваленол принадлежит к группе микотоксинов – трихотеценов и образуется грибами рода *Fusarium*. Дезоксиниваленол часто появляется в растительной продукции, особенно в злаках. Из всех трихотеценовых микотоксинов дезоксиниваленол, 3-ацетил- и 15-ацетилдезоксиниваленол это токсины, наиболее часто встречающиеся 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. Микротитровальные плашки покрыты захватывающими антителами, направленными против анти-дезоксиниваленоловых антител. Добавляются растворы образцов или стандарты дезоксиниваленола, ферментный конъюгат дезоксиниваленола и анти-дезоксиниваленоловые антитела.

Свободный дезоксиниваленол и ферментный конъюгат дезоксиниваленола конкурируют за места связывания дезоксиниваленоловых антител (конкурентный ферментный иммуноанализ). В то же время анти-дезоксиниваленоловые антитела также связываются 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

Одной упаковки реагентов достаточно для выполнения 96 тестирований (включая стандарты). Каждый набор содержит:

Компонент	Цвет крышки	Формат	Объём
Микротитровальный планшет	-	Готов к использованию	96 лунок
Стандарт 1		Готов к использованию	0 мкг/кг 1,3 мл
Стандарт 2		Готов к использованию	3,7 мкг/кг 1,3 мл
Стандарт 3		Готов к использованию	11,1 мкг/кг 1,3 мл
Стандарт 4		Готов к использованию	33,3 мкг/кг 1,3 мл
Стандарт 5		Готов к использованию	100 мкг/кг 1,3 мл
Соль для промывочного буфера Tween		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

5. Необходимые, но не предоставленные материалы

5.1. Оборудование:

- микроплащечный спектрофотометр (450 нм)
- мерный цилиндр: (пластмассовый или стеклянный) на 100 мл, 1 л
- стеклянные расходные материалы для подготовки экстрактов образца: фильтровальная воронка и флакон на 50 мл
- измельчитель (мельница)
- по усмотрению: шейкер
- фильтровальная бумага: Whatman No. 1 или эквивалент
- микропипетки переменного объёма 20 µл - 200 µл и 200 - 1000 µл

5.2. Реагенты:

-дистиллированная или деионизованная вода

6. Меры предосторожности для пользователей

В растворах стандартов содержится деоксиниваленол, поэтому при работе с ними следует соблюдать особые меры предосторожности. Не допускайте контактов с кожей (надевайте перчатки).

Деконтаминацию стеклянной посуды и растворов дезоксиниваленола лучше всего выполнять, используя раствор гипохлорита натрия (известки) (10:90; v/v) в течение ночи, (соляной кислотой – HCl доведите pH до 7).

В стоп-реагенте содержится 1 N серная кислота (R36/38, S2-26).

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

7. Инструкции по хранению

Набор должен храниться при 2 – 8 °С. Не замораживайте набор и его компоненты. Неиспользованные микролунки необходимо поместить назад в оригинальную упаковку из фольги, плотно закрыть её и хранить лунки дальше с поставляемым десикантом при 2 - 8 °С.

Красноватый раствор субстрата/хромогена чувствителен к свету, поэтому следует избегать попадания на него прямого света.

Гарантия качества не сохраняется по окончании срока годности, указанного на этикетке.

Не следует заменять или комбинировать индивидуальные реагенты из наборов разных серий.

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 месте, защищённом от попадания света.

Исследуемый образец (в соответствии с принятой технологией обработки образца) необходимо измельчить и тщательно перемешать, прежде, чем взять его в работу для проведения экстракции.

9.1. Злаки, солод и корма

– взвесьте 5 г измельчённого образца в подходящий контейнер и добавьте 25 мл дистиллированной воды *)

– тщательно перемешайте в течение трёх минут (вручную или на шейкере)

– профильтруйте экстракт через фильтр Whatman No. 1 (или эквивалентный)

– для тестирования используют 50 µл фильтрата на лунку

*) объём образца при необходимости можно увеличить, но объём воды при этом тоже должен быть соответственно изменён, например: 25 г в 125 мл дистиллированной воды, или 50 г в 250 мл дистиллированной воды.

9.2. Пиво

– отберите достаточный объём образца пива и удаляйте из него избыток CO₂ до тех пор, пока не прекратится образование видимых пузырьков (для этого образец можно просто перемешать или профильтровать)

– для анализа используют 50 µл не содержащего CO₂ образца на лунку

В случае, если образцы пива мутноватые, прежде, чем взять образцы в работу для тестирования, рекомендуется после удаления избытка CO₂ провести стерильную фильтрацию образца.

9.3. Сусло

– для анализа используют 50 µл неразбавленного образца на лунку

В случае, если образцы мутноватые, прежде, чем взять образцы в работу для тестирования, рекомендуется провести стерильную фильтрацию образца!

10. Проведение теста

10.1. Предварительные указания

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

В качестве **промывочного буфера (washing buffer)** необходим фосфатно-солевой (PBS tween) буфер с твином. Пожалуйста, воспользуйтесь для этого буферной солью, поставляемой в наборе (см. Пункт 4). Растворите всю поставляемую буферную соль в одном литре дистиллированной воды. Готовый к работе промывочный буфер может храниться до 4-6 недель при температуре 2 - 8 °C (36 - 46 °F).

Альтернатива: Растворите содержимое пакетика в 100 мл дистиллированной воды для получения (10-кратного концентрата). Этот 10-ти кратный концентрат может храниться около 8 - 12 недель при комнатной температуре (20 - 25 °C) / 68 - 77 °F).

Для приготовления готового к работе раствора разведите одну часть 10-кратного концентрата в 9 частях дистиллированной воды.

10.2. Проведение анализа

Правильность этапа промывки играет очень важную роль. В процессе выполнения анализа не допускайте высыхания микролунок.

1. Вставьте в рамку планшета микролунок в количестве, достаточном для всех стандартов и исследуемых образцов. Запишите схему расположения лунок со стандартами и исследуемыми образцами на плашке.

2. Внесите по 50 мкл стандарта или исследуемого образца в соответствующие лунки; используйте при этом каждый раз новый наконечник.

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

4. Добавьте в каждую лунку по 50 мкл анти-деоксиниваленоловых антител (чёрная крышка). Аккуратно перемешайте (вручную) и инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (20 - 25 °C/ 68 - 77 °F).

5. Удалите 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 многоканальную пипетку, заполните все лунки 250 мкл моющего буфера (см. п. 10,1). Опустошите лунки ещё раз и удалите все остатки жидкости. Повторите процедуру промывки лунок еще два раза.

6. Внесите по 100 мкл раствора субстрата / хромогена (коричневая крышка) во все лунки. Перемешайте, осторожно вращая планшет рукой, и оставьте на инкубацию в течение 15 минут при комнатной температуре (20 - 25 °C/ 68 - 77 °F) в темноте.

7. Добавьте в каждую лунку по 100 мкл стоп-раствора (жёлтая крышка) и перемешайте, осторожно вращая планшет рукой. После добавления стоп-реагента в течение 10 минут измерьте оптическую плотность при 450 нм.

11. Результаты

Для обработки результатов анализа компанией R-Biopharm было разработано специальное программное обеспечение для иммуноферментных тестов RIDASCREEN®: программа RIDA®SOFT Win (Кат. № Z9999).

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 обеспечения качества на тест-систему.

Инструкция по обработке 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. На миллиметровой бумаге по величинам относительной оптической плотности, вычисленным для стандартных растворов и соответствующим значениям концентрации дезоксиниваленола (мкг/кг) строится калибровочная кривая в полулогарифмической системе координат.

Чтобы получить реально содержащуюся в образце концентрацию дезоксиниваленола в мкг/кг, необходимо умножить концентрацию, прочитанную по калибровочному графику, на соответствующий фактор разведения. При работе с соблюдением указанных рекомендаций, факторы разведения для каждого вида матрикса будут следующие:

злаки, солод, корма	5
пиво.....	1
сусло.....	1

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.