



RIDASCREEN®FAST Фумонизин ECO

Арт. No. R5603

Иммуноферментный анализ для количественного определения фумонизина

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 Фумонизин ECO

Описание



RIDASCREEN®FAST Fumonisin ECO (арт. № R5603) — это конкурентный иммуноферментный анализ для количественного определения фумонизина в кукурузе и кормах (см. п. 1. Применение).

Все реагенты, необходимые для анализа, в том числе стандарты, входят в состав тест-набора. Этого набора достаточно для 48 определений (включая стандарты). Для количественного определения необходим микротитрационный планшетный спектрофотометр.

Пробоподготовка:	Экстракция, центрифугирование/фильтрация, разбавление		
Время выполнения:	Пробоподготовка (10 образцов)		
	Кукуруза и корма.....	ок. 10 мин	
	Время инкубации.....	ок. 8 мин	
Предел обнаружения: (соответствует стандартному веществу)	Кукуруза	< 0.25 мг/кг (ppm)	
	Корма	< 0.25 мг/кг (ppm)	
Степень извлечения: (естественно загрязненные образцы - Trilogy®)	Кукуруза	ок. 103%	
	Корма	ок. 113%	
Специфичность:	Фумонизин B1	ок. 100%	
	Фумонизин B2	ок. 62%	
	Фумонизин B3	ок. 70%	

Специфичность RIDASCREEN®FAST Fumonisin ECO 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 пользователь должен определить предел обнаружения и степень извлечения для вещества в соответствующей матрице образца. Тест не может различать аналиты и перекрестно-реактивные вещества.

Для повышения качества выполнения процедур ИФА мы дополнительно ссылаемся на наше Руководство по проведению ИФА (GEP) в соответствующей версии. В них перечислены стандарты и условия при выполнении анализа с помощью тест-наборов R-Biopharm AG. Руководство можно найти на веб-сайте Вашего 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	

Сопутствующие товары

RIDASCREEN® Fumonisin ECO (Art. No. R3411)

RIDA® QUICK Fumonisin RQS ECO (Art. No. R5606)

TRILOGY® Liquid Standard Fumonisin B1, B2 (Art. No. TSL-202-2)

TRILOGY® Liquid Standard Fumonisin B1 (Art. No. TSL-204-2)

TRILOGY® Liquid Standard Fumonisin B2 (Art. No. TSL-205-2)

TRILOGY® Dried Standard Fumonisin B1, B2 (Art. No. TS-202-2)

1. Применение

RIDASCREEN®FAST Fumonisin ECO — это конкурентный иммуноферментный анализ для количественного определения фумонизина в кукурузе и кормах.

2. Общая информация

Фумонизины являются канцерогенными, нейро-, гепато- и пневмотоксическими метаболитами *Fusarium moniliforme*, плесневого гриба, который специфично растет на кукурузе. Токсические концентрации фумонизина значительно различаются в зависимости от вида животных. Концентрация ок. 5-10 мг/кг фумонизина в корме вызывают нейротоксические эффекты у лошадей. У свиней прием 4-16 мг на 1 кг массы тела может привести к циррозу печени и более 16 мг на 1 кг массы тела может привести к отеку легких. Куры переносят более высокие концентрации фумонизина в кормах, до 75 мг/кг. Крупный рогатый скот нечувствителен к высоким концентрациям фумонизина.

3. Принцип работы теста

В основе теста лежит реакция антиген-антитело. Лунки микропланшета покрыты антителами, направленными против антител фумонизина.

В лунки добавляют стандарты фумонизина или растворы образцов, конъюгат и антитела против фумонизина. Свободный фумонизин и конъюгат конкурируют за сайты связывания фумонизинового антитела (конкурентный иммуноферментный анализ). В то же время антифумонизиновые антитела также связываются с иммобилизованными захватывающими антителами. Затем несвязанный ферментный конъюгат удаляют на стадии промывки. В лунки добавляют субстрат/хромоген, раствор в лунках окрашивается в синий цвет. Затем добавляют стоп-раствор, цвет раствора в лунках меняется с синего на желтый. Измерение проводят с помощью фотометра при 450 нм. Поглощение обратно пропорционально концентрации фумонизина в образце.

4. Состав набора

Каждый набор содержит материалы для 48 измерений (включая стандарты). Каждый тестовый набор содержит:

Компонент	Цвет крышки	Формат		Объем
Микропланшет М	-	Готов к использованию		48 лунок
Экстрактор ЕСО	Бесцветный	Концентрат	10х	1 x 120 мл
Буфер для разведения	Бесцветный	Готов к использованию		60 мл
Стандарт 1*	Белый	Готов к использованию	0 мг/л	1,3 мл
Стандарт 2*	Белый	Готов к использованию	0,25 мг/л	1,3 мл
Стандарт 3*	Белый	Готов к использованию	0,50 мг/л	1,3 мл
Стандарт 4*	Белый	Готов к использованию	1 мг/л	1,3 мл
Стандарт 5*	Белый	Готов к использованию	3 мг/л	1,3 мл
Стандарт 6*	Белый	Готов к использованию	9 мг/л	1,3 мл
Соль привычного буфера Tween		Соль для растворения		
Конъюгат	Красный	Готов к использованию		3 мл
Антитела	Черный	Готов к использованию		3 мл
Субстрат/хромоген Red Chromogen Pro	Коричневый	Готов к использованию		10 мл
Стоп-раствор	Желтый	Готов к использованию		14 мл

*) Фактор разбавления 50 для пробы уже учтен. Таким образом, концентрации фумонизина (мг/кг или мг/л) в образцах можно считать непосредственно по стандартной кривой.

5. Дополнительные материалы

5.1. Оборудование

- Перчатки
- Весы (диапазон измерения не менее 50 г и точность $\pm 0,01$ г)
- Измельчитель (мельница), лабораторная мясорубка/измельчитель, ступка, ultra-turrax или гомогенизатор
- Градуированный цилиндр: (пластиковый или стеклянный) 250 мл
- Центрифуга (не менее 3500 x g) + центрифужные пробирки с крышкой (например, центрифужные пробирки на 50 мл Greiner Art. № 227261)
- Альтернативный вариант: Фильтровальная бумага: Whatman №1 или аналог
- (Горизонтальный) шейкер

- Вортекс
- Различные микропипетки на 20–200 мкл и 200–1000 мкл
- Многоканальные или 8-канальные пипетки на 50, 100 и 300 мкл
- Спектрофотометр для микротитровальных планшетов (450 нм)

5.2. Реагенты

- Дистиллированная или деионизированная вода

6. Предупреждения и меры предосторожности

Этот тест должен проводиться только обученными сотрудниками лаборатории. Инструкция по применению должна строго соблюдаться.

Стандарты содержат фумонизин, при работе с ними следует соблюдать особую осторожность. Избегайте попадания реагента на кожу (используйте перчатки).

Обеззараживание стеклянной посуды и растворов фумонизина лучше всего проводить с помощью раствора гипохлорита натрия (10 % (по объему)) в течение ночи (довести раствор с помощью HCl до pH 7).

Этот набор содержит опасные вещества. Пожалуйста, изучите паспорта безопасности компонентов (SDS) для этого продукта, доступных онлайн на сайте www.r-biopharm.com.

Не используйте планшет повторно для других анализов. Используйте отдельные наконечники пипеток для каждого стандарта и каждого экстракта образца, чтобы избежать перекрестного загрязнения.

Все реагенты и материалы должны быть утилизированы после использования под собственную ответственность клиентов в соответствии с требованиями защиты здоровья человека и окружающей среды. Пожалуйста, соблюдайте применимые национальные правила по утилизации отходов (например, Закон об управлении отходами, Правила обращения с опасными химическими веществами и т. д.).

7. Хранение

Храните набор при температуре 2–8 °C (36–46 °F). Не замораживайте компоненты тестового набора.

Чтобы влага не попала в лунки открывайте упаковку, в которой они хранятся, только после того, как они достигнут комнатной температуры (20–25 °C/68–77 °F).

Поместите неиспользованные микролунки в исходной упаковке из фольги, запечатав ее вместе с влагопоглотителем и храните в дальнейшем при температуре 2–8 °C (36–46 °F).

Красноватый субстрат/хромоген чувствителен к свету. Поэтому избегайте воздействия прямого света на реагент.

Не используйте тест-набор после истечения срока годности (см. этикетку на тест-наборе).

Не меняйте местами отдельные реагенты в наборах с разными номерами партий. Исключения проверены и указаны в инструкциях по применению.

8. Признаки непригодности реагентов

- Если раствор красноватого субстрата/хромогена имеет синеватый цвет, то его нельзя использовать для анализа
- Значение экстинкции менее 0,8 ($E_{450\text{ нм}} < 0,8$) для нулевого стандарта

9. Пробоподготовка

Образцы следует хранить в прохладном, защищенном от света месте.

Репрезентативная проба (в соответствии с принятыми методами отбора проб) должна быть измельчена и тщательно перемешана перед проведением процедуры экстракции (рекомендуемый размер частиц: 500 мкм).

9.1. Буфер для экстракции

Для экстракции необходим **готовый к использованию экстрактор ЕСО**. Для анализа разбавьте экстрактор ЕСО (10-кратный концентрат) в соотношении 1:10 (1 + 9) дистиллированной или деионизированной водой. Разведенный экстрактор ЕСО стабилен в течение 1 недели при температуре 2–8 °C (36–46 °F). Если в растворе экстрактора есть какое-либо помутнение (возможно, вызванное загрязнением), утилизируйте такой раствор или не используйте его для анализа. Экстрактор ЕСО взаимозаменяем между партиями и тестами RIDASCREEN® для определения микотоксинов методом ИФА.

9.2. Экстракция кукурузы и кормов

Доведите все реагенты и образцы до комнатной температуры (20–25 °C / 68–77 °F) перед использованием и выполняйте подготовку образцов при комнатной температуре.

- Взвесьте 5 г измельченного и гомогенизированного образца в подходящую емкость (например, пробирку на 50 мл) и добавьте 25 мл готового к использованию экстрактора ЕСО.

(Альтернативный вариант: взвесить 10 г измельченного и гомогенизированного образца и 50 мл разбавленного экстрактора ЕСО).

- Энергично встряхивайте образец в течение 5 минут (вручную или на шейкере при 420 об/мин).

- Центрифугируйте полученный раствор 5 мин при 3500 g и комнатной температуре (20–25 °C / 36–46 °F) или отфильтруйте его.

- Разбавьте супернатант 1:10 (1 + 9) буфером для разведения (например, 100 мкл супернатанта + 900 мкл буфера для разведения).

- Используйте по 50 мкл полученного образца на лунку для анализа.

Примечание. Образцы, для которых результаты измерений выше стандарта 6 (> 9 мг/кг (ppm)), рекомендуется дополнительно развести от 1:10 до 1:64 с помощью буфера для разбавления.

Полученный коэффициент разбавления необходимо учитывать при расчете.

Примечание: экстрагированный аналит стабилен не менее 6 ч при комнатной температуре до и после разведения буфером для разбавления.

10. Процедура анализа

10.1. Предварительные указания

Перед использованием доведите все реагенты до комнатной температуры (20–25 °C / 68–77 °F). Проводите анализ при комнатной температуре.

В качестве **промывочного буфера** необходим буфер PBS. Пожалуйста, используйте соль промывочного буфера, содержащуюся в наборе (см. главу 4). Растворите всю соль в одном литре дистиллированной воды. Готовый промывочный буфер годен прикл. 4 недели при хранении при 2–8 °C (36–46 °F).

Альтернатива: Растворите соль в 100 мл дистиллированной воды, чтобы получить 10-кратный концентрат промывочного буфера. Срок годности этого 10-кратного концентрата прикл. 8 недель при хранении при комнатной температуре (20–25 °C / 68–77 °F). Разбавьте этот концентрат 1:9 дистиллированной водой, чтобы получить готовый к использованию промывочный буфер.

Компоненты следует немедленно хранить при температуре 2–8 °C (36–46 °F), если они больше не требуются.

10.2. Процедура анализа

Внимательно следуйте рекомендуемой процедуре промывки для получения правильных результатов. Не допускайте высыхания лунок между этапами анализа и избегайте длительных перерывов между рабочими этапами. Воспроизводимость в любом ИФА в значительной степени зависит от качества промывки микролунок. Тщательно следуйте рекомендуемой инструкции промывки, указанной в процедуре анализа.

Рекомендуется пипетировать конъюгат, антитело, субстрат/хромоген и стоп-раствор с помощью многоканальной пипетки, чтобы избежать смещения во времени по планшету.

Избегайте попадания прямых солнечных лучей на планшет во время инкубаций. Накрывайте микротитровальные планшеты.

1. Вставьте в держатель микропланшетов достаточное количество лунок для анализа всех стандартов и образцов. Запишите положение стандартов и образцов в планшете.

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

3. Добавьте в каждую лунку по 50 мкл конъюгата.

4. Добавьте в каждую лунку по 50 мкл раствора антител. Аккуратно перемешайте, встряхивая планшет вручную и инкубируйте в течение 5 мин при комнатной температуре (20–25 °C/68–77 °F) в темноте.

5. Вылейте жидкость из лунок и энергично постучите держателем микропланшетов вверх дном (три раза) по впитывающей бумаге, чтобы полностью удалить жидкость из лунок. Добавьте в каждую лунку по 250 мкл промывочного



буфера (см. главу 10.1) и вылейте жидкость, как раньше. Повторите этап промывки еще два раза (всего три цикла промывки).

6. Добавьте в каждую лунку по 100 мкл субстрата/хромогена, осторожно перемешайте, встряхивая планшет вручную, и инкубируйте в течение 3 мин при комнатной температуре (20–25 °C/68–77 °F) в темноте.

7. Внесите в каждую лунку по 100 мкл стоп-раствора. Аккуратно перемешайте, встряхивая планшет вручную, и измерьте экстинкцию при 450 нм. Считывайте результаты в течение 10 мин после добавления стоп-раствора.

11. Измерения

Для оценки результатов иммуноферментного анализа рекомендуется использовать специальное программное обеспечение RIDASOFT® Win.NET (Арт. № Z9996FF).

ООО «Неотест», Россия	https://neo-test.ru/programmnoe-obespechenie/	
ОДО «КомПродСервис», Беларусь	https://komprod.com/programmnoe-obespechenie/	

Оценка должна выполняться с использованием функции кубического сплайна.

Для оценки необходимо проверить, что все критерии качества соблюдены для текущего прогона теста. Ход стандартной кривой показан в Сертификате качества (сертификате анализа), прилагаемом к тест-набору.

Обратите внимание, что для оценки необходимо использовать следующий метод:

RidawinFF.NET \ FOOD \ Mycotoxins FAST \ R5603 FAST Fumonisin ECO.met.

Формула для расчета результатов без программного обеспечения:

$$\frac{\text{значение абсорбции стандарта (или образца)}}{\text{значение абсорбции нулевого стандарта}} \times 100 = \% \text{ абсорбции}$$

Таким образом, абсорбция нулевого стандарта принимается равной 100%, значения абсорбции других образцов приводятся в процентах. Значения, рассчитанные для стандартов, заносят в полулогарифмическую систему координат относительно концентрации фумонизина [мг/кг]. Концентрацию фумонизина в мг/кг, соответствующую экстинкции каждого образца, можно определить по калибровочной кривой.

12. Интерпретация результатов

Результаты между LoD и LoQ указывают на низкую концентрацию микотоксина в образце. Результат расчетов показывает высокую неопределенность в этой области из-за большой вариации метода ниже LoQ. Следовательно, такие результаты следует сообщать не с количественным значением, а с качественным как «< LoQ».

Результат ниже LoD не исключают того, что в образце содержатся микотоксины с концентрацией ниже предела обнаружения анализа. Результат должен быть сообщен соответствующим образом.

Дальнейшее разведение и новое определение образцов рекомендуется при значениях оптической плотности (A450 нм) > стандарта б. В случае дальнейшего разведения при расчете концентрации микотоксина необходимо учитывать дополнительный коэффициент разбавления.

13. Ограничения метода

Результаты анализа могут различаться в зависимости от матрицы, фактической процедуры анализа и лабораторных условий.

Пределы обнаружения и количественного определения зависят от матрицы образца, степени обработки и метода экстракции.

Неправильный вес анализируемого образца повлияет на результат измерения 1:1 (например, концентрация на 10 % выше при взвешивании +10 %). Необходимая точность обеспечивается при отклонении не более ± 1 %.

14. Рекомендации

Для обеспечения высокой аналитической производительности мы рекомендуем анализировать каждый образец материала в двух экземплярах. Каждая лаборатория может принять решение о проведении теста в отдельных определениях после квалифицированного анализа управления рисками. Это не влияет на работу тест-набора. Однако следует отметить, что это увеличивает риск пропуска ошибок при выполнении теста (например, ошибок пипетирования). Более того, более высокая вариация результатов будет иметь место при пипетировании в одиночных определениях.

Для обеспечения высокой аналитической производительности мы рекомендуем:

- Предварительно промойте наконечники пипеток перед пипетированием.
- Осуществлять контрольные испытания для контроля качества. Следует использовать образцы, не содержащие микотоксины, и образцы, содержащие микотоксины.

Дополнительную информацию о продукте и его применении можно получить у местного дистрибьютора:

- support@neo-test.ru (РФ)
- support@komprod.com (РБ)

Обзор версий

Номер	Описание
2022-10-14	Первая версия

Пользователь принимает на себя все риски, связанные с использованием продуктов и услуг R-Biopharm AG.

R-Biopharm AG гарантирует, что ее продукты и услуги соответствуют всем стандартам контроля качества, установленным R-Biopharm AG, и R-Biopharm AG, по своему усмотрению, заменит или отремонтирует любые компоненты, продукты или повторные услуги, которые окажутся дефектными в качества изготовления или материала в пределах гарантийных сроков или дат истечения срока годности конкретного продукта, которые, к нашему удовлетворению, должны быть признаны дефектными в результате нашей проверки. Настоящая гарантия явно заменяет все другие гарантии, выраженные или подразумеваемые, в отношении качества, описания, пригодности для какой-либо конкретной цели, товарного состояния, производительности или любых других вопросов. R-Biopharm AG никоим образом не несет ответственности за надлежащее использование своей продукции и настоящим отказывается от всех других средств правовой защиты, гарантий или обязательств, явных или подразумеваемых, возникающих по закону или иным образом, и не несет ответственности за упущенную выгоду. или ущерб, прямой, косвенный или иной, лицу или имуществу в связи с использованием любого из его продуктов или услуг.

Настоящая гарантия не может быть расширена, изменена или изменена, за исключением письменного документа, подписанного уполномоченным представителем R-Biopharm AG.