

Официальный дистрибьютор в России:  
ООО "НеоТест"  
ул. Растопчина, 1Г, г. Владимир  
+7 499 649 02 01  
info@neo-test.ru  
www.neo-test.ru



Официальный дистрибьютор в Беларуси:  
ОДО "КомПродСервис"  
ул. Филимонова, 25Г, г. Минск  
+375 17 336 50 54  
info@komprod.com  
www.komprod.com



r-biopharm®



# RIDASCREEN® FAST Фумонизин ECO

Арт. No. R5603

Hazard Statements:  
EUH208:1 Contains mixture of:  
5-Chloro-2-methyl-2H-  
isothiazol-3-one [EC no.  
247-500-7] and 2-Methyl-  
2H-isothiazol-3-one [EC  
no. 220-239-6] (3:1). May  
produce an allergic  
reaction.  
EUH210 Safety data sheet available  
on request.

## RIDASCREEN® FAST Fumonisin ECO

Art. No. R5603

Enzyme immunoassay for the quantitative determination of fumonisin

|                               |                            |          |
|-------------------------------|----------------------------|----------|
| For in vitro use only         | 1 x Microtiter plate M     | 48 wells |
| Consult instructions for use! | 1 x ECO Extractor          | 120 ml   |
| 00000                         | 1 x Dilution buffer        | 60 ml    |
| JJJJ-MM                       | 1 x Standard 1             | 1.3 ml   |
| 2 - 8 °C                      | 1 x Standard 2             | 1.3 ml   |
| R5603                         | 1 x Standard 3             | 1.3 ml   |
| 48                            | 1 x Standard 4             | 1.3 ml   |
| JJJJ-MM                       | 1 x Standard 5             | 1.3 ml   |
|                               | 1 x Standard 6             | 1.3 ml   |
|                               | 1 x Wash buffer salt Tween | 3 ml     |
|                               | 1 x Conjugate              | 3 ml     |
|                               | 1 x Antibody               | 3 ml     |
|                               | 1 x Substrate/Chromogen    | 10 ml    |
|                               | 1 x Stop solution          | 14 ml    |

R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17  
64297 Darmstadt, Germany  
Phone: +49 (0) 61 51 - 81 02-0  
www.r-biopharm.com

r-biopharm®



**Валидационный  
отчёт**

# RIDASCREEN® FAST Фумонизин ECO

Арт. No. R5603

## 1. Введение

RIDASCREEN® FAST Fumonisin ECO (Арт. № R5603) представляет собой конкурентный иммуноферментный анализ для количественного определения фумонизина в кукурузе и кормах для животных. Тест-набор содержит все реагенты, необходимые для иммуноферментного анализа. Подготовка образцов и проведение испытаний в этом отчете о валидации проводились в соответствии с инструкцией по применению R5603/2022-10-14.

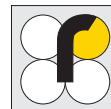
### 1.1 Общая информация

Фумонизины являются канцерогенными, нейро-, гепато- и пневмотоксическими метаболитами *Fusarium moniliforme*, плесневых грибов, которые растут на кукурузе в зависимости от хозяина. Доза фумонизина для купирования токсического действия существенно различается в зависимости от вида животных. Концентрация ок. 5-10 мг/кг фумонизина в корме вызывают нейротоксические эффекты у лошадей. У свиней прием внутрь от 4 до 16 мг/кг массы тела может привести к циррозу печени, а более 16 мг/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.

### 1.2 Принцип работы теста

В основе теста лежит реакция антиген-антитела. Лунки микропланшета покрыты антителами, направленными против антител против 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 любой несвязанный ферментный конъюгат удаляют на стадии промывки. В лунки добавляют субстрат/хромоген, связанный ферментный конъюгат превращает хромоген в продукт синего цвета. Добавление стоп-раствора приводит к изменению цвета с синего на желтый. Измерение проводят фотометрически при 450 нм. Поглощение обратно пропорционально концентрации фумонизина в образце.



# RIDASCREEN® FAST Фумонизин ECO

Арт. No. R5603

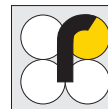
|                      |  |
|----------------------|--|
| Технология           | ИФА  |
| Формат               | Планшет для микротитрования на 48 лунок (6 стрипов по 8 лунок в каждой) (арт. № R5603) |
| Стандартный диапазон | 0 / 0.25 / 0.5 / 1 / 3 / 9 мг/л  |

| Образец            | Пробо-подготовка                          | Предел обнаружения (LoD) | Восстановление естественно загрязненных образцов (Trilogy®) | Maximum levels | Максимальный уровень |
|--------------------|---|--------------------------|---|----------------|----------------------|
| Кукуруза           | Экстракция, центрифугирование, разведение | 0.13 мг/кг               | 103 %   | 1 - 4 мг/кг *  | –                    |
| Корма для животных |   | 0.15 мг/кг               | 113 %   | –              | 5 - 60 мг/кг **      |

\* Кукуруза необработанная; кукуруза и продукты на основе кукурузы, предназначенные для непосредственного потребления человеком.

\*\* Дополнительные и полноценные корма в зависимости от животного.

|                    |  |
|--------------------|--|
| Проведение анализа | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Добавить образец или стандарт</li> <li>2. Добавить конъюгат</li> <li>3. Добавить антитела</li> <li>4. Инкубировать 5 мин при комнатной температуре</li> <li>5. Промыть 3 раза</li> <li>6. Добавить субстрат/хромоген</li> <li>7. Инкубировать 3 мин при комн. температуре (в темн.)</li> <li>8. Добавить стоп-раствор</li> <li>9. Измерить результат спектрофотометром при 450 нм</li> </ol> |
| Измерения          | Анализ с помощью RIDASOFT® Win.NET (процедура подбора кубических сплайнов)   |
| Фактор разведения  | 50 (уже учтено в ПО)   |



# RIDASCREEN® FAST Фумонизин ECO

Арт. No. R5603

## 2. Характеристики метода

Примечание. Анализ был скорректирован с использованием образцов, загрязненных естественным путем. Возможны отклонения в восстановлении образцов с добавлением.

### 2.1 Перекрестная реактивность

Для оценки перекрестной реактивности к различным соединениям фумонизина (фумонсин В2, фумонсин В3) в буфере каждый фумонизин разводили в стандартном буфере для разведения в диапазоне 5–180 нг/мл и тестировали тремя партиями в двух технических повторностях ( $n = 2$ ). Определенные значения 50 % В/В0 использовали для расчета относительной перекрестной реактивности с использованием калибраторов каждой партии.

Были использованы следующие жидкие стандарты Trilogy® Mycotoxin:

TAS-M18LZ1-2 (TSL-204-2): 100 мкг/мл фумонизина В1 (калибратор) ацетонитрил/вода (50/50)

TAS-M19LZ1-2 (TSL-205-2): 100 мкг/мл фумонизина В2 в ацетонитриле/воде (50/50)

TSL-206-2: 100 мкг/мл фумонизина В3 в ацетонитриле/воде (50/50)

Результаты испытаний на перекрестную реактивность в стандартном буфере для разведения приведены в таблице 1.

**Таблица 1: Соединения, протестированные на перекрестную реактивность, и предполагаемая относительная перекрестная реактивность.**

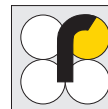
| Вещество                 | Относительная перекрестная реактивность |
|--------------------------|---|
| Фумонизин В <sub>1</sub> | 100 %                                   |
| Фумонизин В <sub>2</sub> | 62 %                                    |
| Фумонизин В <sub>3</sub> | 70 %                                    |

### 2.2 Чувствительность

#### Предел обнаружение (LoD)

Чтобы оценить LoD для конкретной матрицы, два техника извлекли десять различных пустых образцов матрицы кукурузы и корма для животных за один день, используя одну партию экстрактора. Экстракты были проанализированы двумя техниками в трех разных партиях тест-наборов. Подготовку образцов и проведение испытаний проводили согласно инструкции по применению R5603/2022-10-14.

Для расчета использовались значения В/В0 десяти образцов, протестированных в каждой партии. После расчета среднего значения и стандартного отклонения значений В/В0 трехкратное стандартное отклонение вычитали из среднего значения В/В0. Это значение было преобразовано в концентрацию с использованием калибровочной кривой. В таблице 2 показаны результаты для кукурузы, а в таблице 3 - для корма для животных в каждой партии. Средние значения LoD составляли 0,13 мг/кг фумонизина для кукурузы и 0,15 мг/кг фумонизина для корма для животных.



# RIDASCREEN® FAST Фумонизин ECO

Арт. No. R5603

**Таблица 2: Оценка LoD в образцах кукурузы; выбросы отмечены звездочкой\*.**

## Кукуруза

| Техническая       | Лот 1                |                      | Лот 2                |                      | Лот 3                |                      |
|-------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|                   | 1                    | 2                    | 1                    | 2                    | 1                    | 2                    |
| Копия             | V/B <sub>0</sub> (%) | V/B <sub>0</sub> (%) | V/B <sub>0</sub> (%) | V/B <sub>0</sub> (%) | V/B <sub>0</sub> (%) | V/B <sub>0</sub> (%) |
| 1                 | 112.0                | 113.1                | 108.6                | 111.7                | 106.0                | 113.5                |
| 2                 | 106.0                | 104.1                | 103.6                | 101.0                | 115.9                | 101.0                |
| 3                 | 107.0                | 102.5                | 107.2                | 99.3                 | 109.6                | 100.3                |
| 4                 | 99.3                 | 105.4                | 100.8                | 102.3                | 117.6                | 99.6                 |
| 5                 | 99.5                 | 104.5                | 102.0                | 102.9                | 98.1                 | 106.7                |
| 6                 | 105.0                | 101.1                | 99.9                 | 107.7                | 100.4                | 97.7                 |
| 7                 | 83.1                 | 106.7                | 106.5                | 95.0                 | 100.9                | 106.1                |
| 8                 | 45.9*                | 103.5                | 59.7*                | 103.6                | 60.7*                | 106.0                |
| 9                 | 87.8                 | 95.3                 | 98.8                 | 102.9                | 96.2                 | 93.8                 |
| 10                | 103.1                | 99.6                 | 105.5                | 105.9                | 112.2                | 106.7                |
| Среднее           | 100.3                | 103.6                | 103.6                | 103.2                | 106.3                | 103.1                |
| SD                | 9.34                 | 4.69                 | 3.50                 | 4.58                 | 7.88                 | 5.69                 |
| Среднее - 3*SD    | 72.3                 | 89.5                 | 93.2                 | 89.5                 | 82.7                 | 86.1                 |
| OD (LoD)          | 2.077                | 1.840                | 2.545                | 1.723                | 2.003                | 1.767                |
| LoD, мг/кг        | 0.228                | 0.085                | 0.060                | 0.095                | 0.150                | 0.141                |
| <b>LoD, мг/кг</b> | <b>0.157</b>         |                      | <b>0.078</b>         |                      | <b>0.146</b>         |                      |

**Таблица 3: Оценка LoD в образцах кормов для животных**

## Корма для животных

| Техническая       | Лот 1                |                      | Лот 2                |                      | Лот 3                |                      |
|-------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|                   | 1                    | 2                    | 1                    | 2                    | 1                    | 2                    |
| копия             | V/B <sub>0</sub> (%) | V/B <sub>0</sub> (%) | V/B <sub>0</sub> (%) | V/B <sub>0</sub> (%) | V/B <sub>0</sub> (%) | V/B <sub>0</sub> (%) |
| 1                 | 91.9                 | 89.5                 | 97.1                 | 99.0                 | 98.9                 | 96.8                 |
| 2                 | 98.0                 | 91.3                 | 107.0                | 102.9                | 95.7                 | 94.5                 |
| 3                 | 95.2                 | 95.9                 | 95.0                 | 100.2                | 97.6                 | 102.2                |
| 4                 | 97.6                 | 97.5                 | 95.3                 | 110.4                | 99.9                 | 97.4                 |
| 5                 | 90.7                 | 98.3                 | 97.0                 | 102.5                | 99.5                 | 99.4                 |
| 6                 | 86.7                 | 90.2                 | 90.0                 | 102.3                | 94.9                 | 98.5                 |
| 7                 | 104.5                | 98.2                 | 103.5                | 108.2                | 104.6                | 104.2                |
| 8                 | 94.6                 | 96.2                 | 87.0                 | 97.9                 | 91.5                 | 100.7                |
| 9                 | 91.7                 | 86.6                 | 89.3                 | 96.1                 | 94.3                 | 94.5                 |
| 10                | 98.5                 | 100.3                | 94.2                 | 100.6                | 95.8                 | 101.5                |
| Среднее           | 106.4                | 101.5                | 103.1                | 96.4                 | 95.8                 | 92.6                 |
| SD                | 7.70                 | 4.53                 | 7.79                 | 6.24                 | 5.63                 | 5.35                 |
| Среднее - 3*SD    | 83.3                 | 87.9                 | 79.7                 | 77.7                 | 78.9                 | 76.5                 |
| OD (LoD)          | 2.295                | 1.656                | 2.104                | 1.709                | 2.089                | 1.832                |
| LoD, мг/кг        | 0.174                | 0.152                | 0.226                | 0.101                | 0.122                | 0.101                |
| <b>LoD, мг/кг</b> | <b>0.163</b>         |                      | <b>0.164</b>         |                      | <b>0.112</b>         |                      |



# RIDASCREEN® FAST Фумонизин ECO

Арт. No. R5603

## Предел количественного определения (LoQ)

Для оценки предполагаемого уровня LoQ, равного 0,25 мг/кг фумонизина в кукурузе, эталонный материал Trilogy с низким уровнем загрязнения (кукуруза F-C-470; 0,5 мг/кг) был первоначально истощен десять раз с помощью чистого эталонного материала Trilogy (кукуруза F-C-470) до получают концентрацию 0,25 мг/кг фумонизина. Каждый образец был извлечен, а затем проанализирован двумя техниками в трех разных партиях тест-наборов (таблица 4). Для корма для животных LoQ определяли, используя разброс рассчитанной концентрации измеренных пустых образцов (таблица 5). В дополнение к трехкратному значению LoD из среднего значения В/В0 вычитали шестикратное стандартное отклонение.

LoQ для фумонизина в кукурузе был экспериментально подтвержден при концентрации 0,24 мг/кг (таблица 4). Относительное стандартное отклонение во всех партиях составляло 13,1 % или ниже. Таблица 4 показывает, что количественное определение с хорошей точностью возможно в нижнем диапазоне 0,25 мг/кг фумонизина. В таблице 5 показано, что LoQ для корма для животных составляет 0,31 мг/кг.

Таблица 4: Проверка значения LoQ в истощенных образцах кукурузы.

### Кукуруза

| Копия             | Лот 1 |           | Лот 2       |           | Лот 3 |           |
|-------------------|-------|-----------|-------------|-----------|-------|-----------|
|                   | мг/кг | Извл. (%) | мг/кг       | Извл. (%) | мг/кг | Извл. (%) |
| 1                 | 0.203 | 81        | 0.242       | 97        | 0.313 | 125       |
| 2                 | 0.232 | 93        | 0.150       | 60        | 0.273 | 109       |
| 3                 | 0.240 | 96        | 0.212       | 85        | 0.264 | 106       |
| 4                 | 0.223 | 89        | 0.206       | 82        | 0.221 | 88        |
| 5                 | 0.267 | 107       | 0.209       | 84        | 0.264 | 106       |
| 6                 | 0.255 | 102       | 0.236       | 94        | 0.220 | 88        |
| 7                 | 0.260 | 104       | 0.204       | 82        | 0.303 | 121       |
| 8                 | 0.235 | 94        | 0.208       | 83        | 0.307 | 123       |
| 9                 | 0.192 | 77        | 0.193       | 77        | 0.228 | 91        |
| 10                | 0.283 | 113       | 0.210       | 84        | 0.276 | 110       |
| Среднее           | 0.239 | 96        | 0.207       | 83        | 0.267 | 107       |
| SD                | 0.028 |           | 0.025       |           | 0.035 |           |
| RSD (%)           | 11.9  |           | 12.0        |           | 13.1  |           |
| <b>LoQ, мг/кг</b> |       |           | <b>0.24</b> |           |       |           |

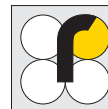
# RIDASCREEN® FAST Фумонизин ECO

Арт. No. R5603

Таблица 5: Расчет значений LoQ для холостой пробы корма для животных.

## Корма для животных

|                   | Лот 1                |                      | Лот 2                |                      | Лот 3                |                      |
|-------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|                   | 1                    | 2                    | 1                    | 2                    | 1                    | 2                    |
| Копии             | V/B <sub>0</sub> (%) | V/B <sub>0</sub> (%) | V/B <sub>0</sub> (%) | V/B <sub>0</sub> (%) | V/B <sub>0</sub> (%) | V/B <sub>0</sub> (%) |
| 1                 | 91.9                 | 89.5                 | 97.1                 | 99.0                 | 98.9                 | 96.8                 |
| 2                 | 98.0                 | 91.3                 | 107.0                | 102.9                | 95.7                 | 94.5                 |
| 3                 | 95.2                 | 95.9                 | 95.0                 | 100.2                | 97.6                 | 102.2                |
| 4                 | 97.6                 | 97.5                 | 95.3                 | 110.4                | 99.9                 | 97.4                 |
| 5                 | 90.7                 | 98.3                 | 97.0                 | 102.5                | 99.5                 | 99.4                 |
| 6                 | 86.7                 | 90.2                 | 90.0                 | 102.3                | 94.9                 | 98.5                 |
| 7                 | 104.5                | 98.2                 | 103.5                | 108.2                | 104.6                | 104.2                |
| 8                 | 94.6                 | 96.2                 | 87.0                 | 97.9                 | 91.5                 | 100.7                |
| 9                 | 91.7                 | 86.6                 | 89.3                 | 96.1                 | 94.3                 | 94.5                 |
| 10                | 98.5                 | 100.3                | 94.2                 | 100.6                | 95.8                 | 101.5                |
| Среднее           | 94.9                 | 94.4                 | 95.5                 | 102.0                | 97.3                 | 99.0                 |
| SD                | 5.0                  | 4.6                  | 6.2                  | 4.4                  | 3.7                  | 3.3                  |
| Среднее - 6*SD    | 64.8                 | 66.7                 | 58.5                 | 75.5                 | 75.2                 | 79.5                 |
| OD LoQ            | 1.862                | 1.372                | 1.598                | 1.454                | 1.822                | 1.632                |
| LoQ (6*SD), мг/кг | 0.287                | 0.292                | 0.516                | 0.252                | 0.251                | 0.248                |
| <b>LoQ, мг/кг</b> | <b>0.31</b>          |                      |                      |                      |                      |                      |



# RIDASCREEN® FAST Фумонизин ECO

Арт. No. R5603

## 3. Извлечение

### 3.1 Восстановление с использованием эталонных материалов (Trilogy®)

Для характеристики правильности кукурузы и кормов для животных использовались эталонные материалы Trilogy. Образцы экстрагировали в n=6 биологических повторностях. Все образцы, протестированные во время валидации, были проанализированы в трех или четырех партиях тест-наборов. Пробы кормов для животных анализировали в n=6 или 7 биологических повторностях. Подготовку образцов и проведение испытаний проводили согласно инструкции по применению R5603/2022-10-14.

В таблицах 6 (кукуруза) и 9 (корм для животных) обобщены средние извлечения в образцах кукурузы и корма для животных из трех партий тест-наборов. Результаты между партиями были достаточно сопоставимы, за исключением некоторых значений в партии 3. Образцы кукурузы и корма для животных с концентрациями фумонизина 1,0, 1,6 и 2,7 мг/кг были определены значительно ниже по сравнению с партиями 1 и 2. Это могло быть за счет индивидуальных стандартных настроек отдельных лотов.

В таблицах 7 (кукуруза) и 10 (корм для животных) измеренные значения отдельных партий сравниваются с требуемыми целевыми диапазонами (k=2) из сертификатов анализа Trilogy. Только в 2 случаях из 21 для кукурузы и в 2 из 10 случаев для кормов для животных результаты выходили за пределы диапазона измерений (отмечены звездочкой\*).

В таблице 8 показаны результаты двух проанализированных повторностей кукурузы, выбранных в качестве примеров, в таблице 11 в качестве примера показаны результаты одного проанализированного образца корма для животных. В случае таблицы 11 был проведен тест на выбросы согласно Граббсу.

Таблица 6: Сводка результатов анализа эталонных материалов кукурузы Trilogy в n=6 биологических повторностях; образцы, отмеченные звездочкой\*: степень извлечения > 130 %.

### Кукуруза

|                | Цель<br>мг/кг | Лот 1 |            |         | Лот 2 |            |         | Лот 3 |           |         |
|----------------|---------------|-------|------------|---------|-------|------------|---------|-------|-----------|---------|
|                |               | мг/кг | Извл. (%)  | RSD (%) | мг/кг | Извл. (%)  | RSD (%) | мг/кг | Извл. (%) | RSD (%) |
| F-C-488        | 0.50          | 0.46  | 93         | 5.7     | 0.48  | 95         | 6.5     | 0.45  | 91        | 4.4     |
| F-C-491        | 1.00          | 1.52  | 152*       | 5.3     | 1.65  | 164*       | 4.4     | 1.26  | 126       | 6.6     |
| F-C-484        | 1.60          | 1.41  | 88         | 3.9     | 1.47  | 92         | 4.7     | 1.12  | 70        | 2.7     |
| F-C-478        | 2.70          | 2.46  | 91         | 3.4     | 2.27  | 94         | 2.5     | 1.95  | 72        | 1.5     |
| F-C-450RB      | 4.10          | 4.54  | 111        | 15.3    | 3.90  | 95         | 8.8     | 4.65  | 113       | 10.9    |
| F-C-480        | 5.50          | 6.66  | 121        | 4.8     | 5.21  | 95         | 4.1     | 5.64  | 102       | 7.9     |
| F-C-494        | 7.70          | 8.61  | 112        | 7.5     | 7.32  | 95         | 6.0     | 7.09  | 92        | 2.1     |
| <b>Среднее</b> |               |       | <b>110</b> |         |       | <b>104</b> |         |       | <b>95</b> |         |



# RIDASCREEN® FAST Фумонизин ECO

Арт. No. R5603

Таблица 7: Сравнение измеренных значений кукурузы с требуемым целевым диапазоном (k=2) из сертификатов анализа Trilogy. Измеренные значения, выходящие за пределы целевого диапазона, отмечены звездочкой\*.

## Кукуруза

|           | Диапазон неопределенности (k=2) |               |               | Измеренные концентрации |                |                |
|-----------|---------------------------------|---------------|---------------|-------------------------|----------------|----------------|
|           | мин<br>мг/кг                    | Цель<br>mg/kg | макс<br>мг/кг | Лот 1<br>мг/кг          | Лот 2<br>мг/кг | Лот 3<br>мг/кг |
| F-C-488   | 0.40                            | 0.50          | 0.70          | 0.46                    | 0.48           | 0.45           |
| F-C-491   | 0.80                            | 1.00          | 1.30          | 1.52*                   | 1.65*          | 1.26           |
| F-C-484   | 1.10                            | 1.60          | 2.20          | 1.41                    | 1.47           | 1.12           |
| F-C-478   | 2.20                            | 2.70          | 3.20          | 2.46                    | 2.27           | 1.95           |
| F-C-450RB | 3.10                            | 4.10          | 5.30          | 4.54                    | 3.90           | 4.65           |
| F-C-480   | 4.20                            | 5.50          | 6.80          | 6.66                    | 5.21           | 5.64           |
| F-C-494   | 6.30                            | 7.70          | 9.10          | 8.61                    | 7.32           | 7.09           |

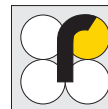
Таблица 8: Результаты анализа эталонного материала кукурузы Trilogy с концентрациями фумонизина от 1,6 до 4,1 мг/кг. Значения, отмеченные звездочкой\*, показывают восстановление < 70 % и > 130 %.

## F-C-484 (1.6 мг/кг)

| Копии   | Лот 1 |           | Лот 2 |           | Лот 3 |           |
|---------|-------|-----------|-------|-----------|-------|-----------|
|         | мг/кг | Извл. (%) | мг/кг | Извл. (%) | мг/кг | Извл. (%) |
| 1       | 1.39  | 87        | 1.48  | 93        | 1.09  | 68*       |
| 2       | 1.44  | 90        | 1.44  | 90        | 1.11  | 69*       |
| 3       | 1.39  | 87        | 1.40  | 88        | 1.10  | 69*       |
| 4       | 1.35  | 84        | 1.38  | 86        | 1.10  | 69*       |
| 5       | 1.38  | 86        | 1.58  | 99        | 1.12  | 70        |
| 6       | 1.52  | 95        | 1.52  | 95        | 1.18  | 74        |
| Среднее | 1.41  | 88        | 1.47  | 92        | 1.12  | 70        |
| SD      | 0.06  | –         | 0.07  | –         | 0.03  | –         |
| RSD (%) | 3.91  | –         | 4.70  | –         | 2.67  | –         |

## F-C-450RB (4.1 мг/кг)

| Копии   | Лот 1 |           | Лот 2 |           | Лот 3 |           |
|---------|-------|-----------|-------|-----------|-------|-----------|
|         | мг/кг | Извл. (%) | мг/кг | Извл. (%) | мг/кг | Извл. (%) |
| 1       | 5.77  | 141*      | 3.63  | 89        | 4.91  | 120       |
| 2       | 4.59  | 112       | 4.55  | 111       | 5.44  | 133*      |
| 3       | 4.51  | 110       | 3.91  | 95        | 4.51  | 110       |
| 4       | 4.00  | 98        | 3.67  | 90        | 4.89  | 119       |
| 5       | 3.53  | 86        | 4.07  | 99        | 3.88  | 95        |
| 6       | 4.81  | 117       | 3.54  | 86        | 4.24  | 103       |
| Среднее | 4.54  | 111       | 3.90  | 95        | 4.65  | 113       |
| SD      | 0.70  | –         | 0.34  | –         | 0.50  | –         |
| RSD (%) | 15.33 | –         | 8.81  | –         | 10.87 | –         |



# RIDASCREEN® FAST Фумонизин ECO

Арт. No. R5603

## Корма для животных

Таблица 9: Сводка результатов анализа эталонных материалов кормов для животных Trilogy в n=6 биологических повторностях; образцы, отмеченные звездочкой\*: степень извлечения > 130 %.

|                | Цель<br>мг/кг | Лот 1 |            |         | Лот 2 |            |         | Лот 3 |            |         |
|----------------|---------------|-------|------------|---------|-------|------------|---------|-------|------------|---------|
|                |               | мг/кг | Извл. (%)  | RSD (%) | мг/кг | Извл. (%)  | RSD (%) | мг/кг | Извл. (%)  | RSD (%) |
| MT-HF-9946     | 1.60          | 2.18  | 136*       | 9.6     | 2.33  | 146*       | 4.8     | 1.79  | 112        | 9.7     |
| MT-SF-9967     | 7.20          | 7.26  | 101        | 4.2     | 6.43  | 89         | 4.2     | 6.67  | 93         | 5.3     |
| <b>Среднее</b> |               |       | <b>119</b> |         |       | <b>118</b> |         |       | <b>103</b> |         |

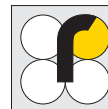
Таблица 10: Сравнение измеренных значений корма для животных с требуемым целевым диапазоном (k=2) из сертификатов анализа Trilogy. Измеренные значения, выходящие за пределы целевого диапазона, отмечены звездочкой\*.

|            | Диапазон неопределенности (k=2) |               |               | Измеренные концентрации |                |                |                |
|------------|---------------------------------|---------------|---------------|-------------------------|----------------|----------------|----------------|
|            | мин<br>мг/кг                    | цель<br>мг/кг | макс<br>мг/кг | Лот 1<br>мг/кг          | Лот 2<br>мг/кг | Лот 3<br>мг/кг | Лот 4<br>мг/кг |
| MT-HF-9946 | 1.40                            | 1.60          | 1.80          | 0.46                    | 0.48           | 0.45           | –              |
| MT-SF-9967 | 5.50                            | 7.20          | 8.80          | 1.52*                   | 1.65*          | 1.26           | 5.89           |
| MT-PF-9968 | 1.70                            | 2.10          | 2.50          | –                       | –              | –              | 2.09           |
| MT-DF-9961 | 2.30                            | 3.10          | 3.90          | –                       | –              | –              | 2.91           |
| MT-SE-9940 | 7.10                            | 8.80          | 10.30         | –                       | –              | –              | 7.15           |

Таблица 11: Результаты анализа эталонного материала корма для животных Trilogy с концентрацией фумонизина 7,2 мг/кг. Значения, отмеченные звездочкой, были исключены как выбросы (\* p = 0,05 Граббса).

## MT-SF 9967 (7.2 мг/мг)

| Копии          | Лот 1       |            | Лот 2       |           | Лот 2       |           |
|----------------|-------------|------------|-------------|-----------|-------------|-----------|
|                | мг/кг       | Извл. (%)  | мг/кг       | Извл. (%) | мг/кг       | Извл. (%) |
| 1              | 7.41        | 103        | 6.59        | 92        | 6.66        | 93        |
| 2              | 6.62        | 92         | 6.89        | 96        | 7.19        | 100       |
| 3              | 7.41        | 103        | 6.21        | 86        | 6.91        | 96        |
| 4              | 7.52        | 104        | 6.21        | 86        | 6.19        | 86        |
| 5              | 7.18        | 100        | 6.26        | 87        | 6.26        | 87        |
| 6              | 7.41        | 103        | 8.55*       | 119*      | 6.80        | 94        |
| <b>Среднее</b> | <b>7.26</b> | <b>101</b> | <b>6.43</b> | <b>89</b> | <b>6.67</b> | <b>93</b> |
| SD             | 0.30        | –          | 0.27        | –         | 0.35        | –         |
| RSD (%)        | 4.18        | –          | 4.19        | –         | 5.28        | –         |



# RIDASCREEN® FAST Фумонизин ECO

Арт. No. R5603

## 4. Точность

### Точность воспроизводимости внутри лаборатории (промежуточная точность)

Чтобы получить представление о промежуточной или внутрилабораторной воспроизводимости, трое технических специалистов протестировали три партии наборов в три разных дня. Были проанализированы пять различных эталонных материалов кукурузы Trilogy. Каждый образец извлекался шесть раз каждым техником. Относительные стандартные отклонения составляли от 4,4 % до 13,6 %, а извлечения — от 84 % до 120 % (таблица 12). В этом случае был проведен тест на выбросы по Граббсу. Дана повторяемость теста

Таблица 12: Определение внутрилабораторной воспроизводимости путем анализа пяти разных образцов кукурузы Trilogy в трех разных партиях тест-наборов тремя разными техниками в разные дни; значения, отмеченные звездочкой, были исключены как выбросы (\* p = 0,05 Граббса).

|                                 | Копии   | F-C-470              | F-C-488 (Mix*) |           | F-C-488   |           | F-C-484   |           | MT-SW-9940 |           |
|---------------------------------|---------|----------------------|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|
|                                 |         | Холостой             | 0.25 мг/кг     |           | 0.5 мг/кг |           | 1.6 мг/кг |           | 8.8 мг/кг  |           |
|                                 |         | V/B <sub>0</sub> (%) | мг/кг          | Извл. (%) | мг/кг     | Извл. (%) | мг/кг     | Извл. (%) | мг/кг      | Извл. (%) |
| День 1<br>Специалист 1<br>Лот 1 | 1       | 100.5                | 0.182*         | 72.8*     | 0.54      | 108       | 1.28      | 80        | 9.76       | 136       |
|                                 | 2       | 99.6                 | 0.29           | 117       | 0.48      | 95        | 1.39      | 87        | 9.71       | 135       |
|                                 | 3       | 99.7                 | 0.27           | 107       | 0.51      | 102       | 1.28      | 80        | 9.62       | 134       |
|                                 | 4       | 100.1                | 0.24           | 97        | 0.47      | 95        | 1.36      | 85        | 9.30       | 129       |
|                                 | 5       | 101.8                | 0.26           | 106       | 0.60      | 120       | 1.35      | 84        | 9.85       | 137       |
|                                 | 6       | 101.5                | 0.26           | 104       | 0.53      | 106       | 1.22      | 76        | 9.44       | 131       |
|                                 | Среднее | 100.5                | 0.27           | 106       | 0.52      | 104       | 1.31      | 82        | 9.61       | 134       |
|                                 | SD      | 0.9                  | 0.02           | –         | 0.05      | –         | 0.06      | –         | 0.21       | –         |
|                                 | RSD (%) | 0.9                  | 6.6            | –         | 9.2       | –         | 4.9       | –         | 2.2        | –         |
| День 2<br>Специалист 2<br>Лот 2 | 1       | 104.7                | 0.22           | 88        | 0.47      | 93        | 1.48      | 93        | 9.19       | 128       |
|                                 | 2       | 103.3                | 0.21           | 84        | 0.46      | 92        | 1.36      | 85        | 9.83       | 137       |
|                                 | 3       | 101.2                | 0.21           | 84        | 0.50      | 100       | 1.45      | 91        | 8.90       | 124       |
|                                 | 4       | 102.6                | 0.29           | 117       | 0.38      | 77        | 1.34      | 84        | 9.37       | 130       |
|                                 | 5       | 102.0                | 0.26           | 105       | 0.49      | 98        | 1.49      | 93        | 8.85       | 123       |
|                                 | 6       | 107.3                | 0.25           | 100       | 0.56      | 112       | 1.30      | 81        | 8.44       | 117       |
|                                 | Среднее | 103.5                | 0.24           | 96        | 0.48      | 95        | 1.40      | 88        | 9.10       | 126       |
|                                 | SD      | 2.2                  | 0.03           | –         | 0.06      | –         | 0.08      | –         | 0.48       | –         |
|                                 | RSD (%) | 2.1                  | 13.7           | –         | 12.0      | –         | 5.7       | –         | 5.3        | –         |
| День 3<br>Специалист 3<br>Лот 3 | 1       | 115.8                | 0.31           | 122       | 0.49      | 97        | 1.25      | 78        | 10.10      | 115       |
|                                 | 2       | 110.0                | 0.22           | 86        | 0.51      | 103       | 1.35      | 84        | 8.77       | 100       |
|                                 | 3       | 99.3                 | 0.21           | 82        | 0.47      | 95        | 1.30      | 81        | 8.98       | 102       |
|                                 | 4       | 106.6                | 0.27           | 108       | 0.43      | 86        | 1.26      | 79        | 8.28       | 94        |
|                                 | 5       | 98.6                 | 0.31           | 123       | 0.48      | 97        | 1.25      | 78        | 8.00       | 91        |
|                                 | 6       | 97.6                 | 0.30           | 119       | 0.57      | 115       | 1.41      | 88        | 8.48       | 96        |
|                                 | Среднее | 104.7                | 0.27           | 107       | 0.49      | 99        | 1.30      | 81        | 8.77       | 100       |
|                                 | SD      | 7.4                  | 0.05           | –         | 0.05      | –         | 0.07      | –         | 0.74       | –         |
|                                 | RSD (%) | 7.1                  | 17.2           | –         | 9.8       | –         | 5.0       | –         | 8.4        | –         |
| Все                             | Среднее | 102.9                | 0.26           | 103       | 0.5       | 99        | 1.3       | 84        | 9.2        | 120       |
|                                 | SD      | 4.6                  | 0.04           | –         | 0.1       | –         | 0.1       | –         | 0.6        | –         |
|                                 | RSD (%) | 4.4                  | 13.6           | –         | 10.4      | –         | 6.0       | –         | 6.6        | – 12      |

\* Справочный материал Trilogy, дополненный пустым образцом кукурузы.

# RIDASCREEN® FAST Фумонизин ECO

Арт. No. R5603

## 5. Разбавление

Чтобы увидеть, можно ли развести образец, сильно загрязненный фумонизином, до диапазона определения калибратора, в образец корма для животных Trilogy, загрязненный 8,8 мг/кг фумонизина, был дополнительно добавлен 20 мг/кг фумонизина B1. Оба образца экстрагировали, а затем разбавляли буфером для разбавления образцов по всему диапазону калибратора и измеряли в одной партии (таблица 13). На рис. 1 показано восстановление двух образцов в соответствии с разбавлениями, указывающее на хорошую разбавляемость в диапазоне определения калибратора. Образцы, находящиеся в верхней или нижней части калибратора, могут быть завышены или занижены (отмечены звездочкой\* в таблице 13).

Таблица 13: Разбавляемость одного образца корма для животных, загрязненного естественным путем, и одного образца корма для животных, загрязненного естественным путем, с добавками. Образцы со звездочкой\*: степень извлечения < 70 %.

|     | MT-SW-9940    |                    |            | MT-SW-9940 + 20 мг/кг фумонизина B <sub>1</sub> |                    |            |
|-----|---------------|--------------------|------------|---|--------------------|------------|
|     | цель<br>мг/кг | измерения<br>мг/кг | Извл.<br>% | Цель<br>мг/кг                                   | измерения<br>мг/кг | Извл.<br>% |
| 1   | 8.8           | 9.4                | 106        | 28.8  | 13.0               | 45*        |
| 2   | 8.8           | 10.2               | 116        | 28.8  | 21.6               | 75         |
| 4   | 8.8           | 7.3                | 83         | 28.8  | 26.9               | 93         |
| 8   | 8.8           | 7.6                | 86         | 28.8  | 22.7               | 79         |
| 16  | 8.8           | 9.5                | 108        | 28.8  | 21.3               | 74         |
| 32  | 8.8           | 9.7                | 110        | 28.8  | 24.7               | 86         |
| 64  | –             | –                  | –          | 28.8  | 26.2               | 91         |
| 128 | –             | –                  | –          | 28.8  | 17.2               | 60*        |
| 256 | –             | –                  | –          | 28.8  | 8.7                | 30*        |

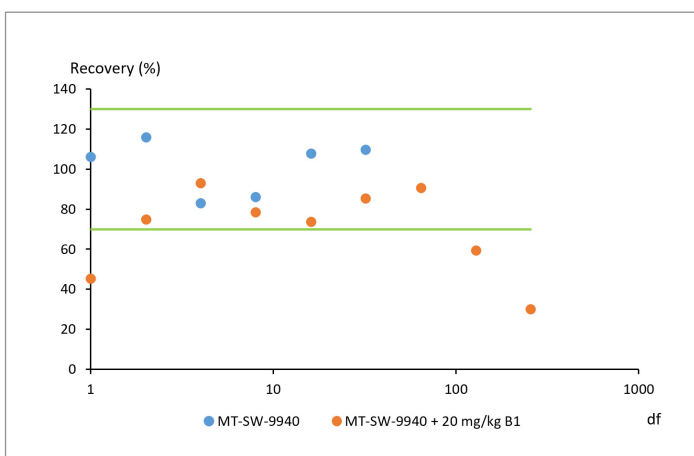


Рисунок 1: Разбавляемость одного образца корма для животных с естественным загрязнением и одного образца корма для животных с добавлением естественного загрязнения. Диапазон извлечения от 70 до 130 % показан зелеными линиями. DF = коэффициент разбавления

# RIDASCREEN® FAST Фумонизин ECO

Арт. No. R5603

## Тестирование образцов в RIDASCREEN®FAST Fumonisin ECO и RIDASCREEN®FAST Охратоксин ECO

Чтобы показать, что образец, экстрагированный с помощью экстрактора ECO, можно использовать в различных продуктах ELISA на микотоксины, был извлечен образец Trilogy Multitoxin (MT-C-99990) (n=6) и измерены с помощью RIDASCREEN®FAST Fumonisin ECO и RIDASCREEN®.®FAST Охратоксин ECO. Результаты показывают небольшое завышение степени извлечения, что дает более высокие результаты для R5603, чем для R5402 (таблица 14). Однако RSD были сопоставимы между обоими тестами, что указывает на то, что экстракт образца можно тестировать в разных тестах ELISA. Повышенное извлечение в образцах с несколькими токсинами при определении микотоксинов в кукурузе, а также в других матрицах наблюдается широко. Это может быть связано, среди прочего, с метаболитами или мешающими компонентами матрицы неизвестного состава.

Таблица 14: Сравнение шести повторных образцов MT-C-99990, экстрагированных экстрактором ECO и измеренных в RIDASCREEN®FAST Ochratoxin ECO (арт. № R5402) и RIDASCREEN®FAST Fumonisin ECO (арт. № R5603). Образцы со звездочкой\*: выход > 130 %.

|            | FAST Охратоксин ECO, (Арт. No. R5402) |                    |            | FAST Фумонизин ECO, (Арт. No. R5603) |                    |            |
|------------|---------------------------------------|--------------------|------------|--------------------------------------|--------------------|------------|
|            | цель<br>мг/кг                         | измерения<br>мг/кг | Извл.<br>% | цель<br>мг/кг                        | измерения<br>мг/кг | Извл.<br>% |
| Экстракт 1 | 21.6                                  | 25.7               | 119        | 3.0                                  | 4.5                | 149*       |
| Экстракт 2 | 21.6                                  | 24.8               | 115        | 3.0                                  | 3.8                | 126        |
| Экстракт 3 | 21.6                                  | 24.0               | 111        | 3.0                                  | 3.3                | 111        |
| Экстракт 4 | 21.6                                  | 26.8               | 124        | 3.0                                  | 4.1                | 138*       |
| Экстракт 5 | 21.6                                  | 19.8               | 91         | 3.0                                  | 3.8                | 128        |
| Экстракт 6 | 21.6                                  | 24.3               | 113        | 3.0                                  | 4.1                | 135*       |
| Среднее    | –                                     | 24.2               | 112        | –                                    | 3.9                | 131*       |
| RSD (%)    | –                                     | 9.9                | 9.9        | –                                    | 9.8                | 9.8        |

# RIDASCREEN® FAST Фумонизин ECO

Арт. No. R5603

## 6. Неопределенность метода

### 6.1 Надежность

Этот эксперимент проводили, чтобы показать влияние температуры инкубации на процедуру ELISA в одной партии (таблицы 15 и 16). Температура — это параметр, который может повлиять на результаты тестового набора, поскольку известно, что он может меняться в процессе использования.

Таблица 15 показывает, что оптическая плотность (ОП) калибраторов увеличивается с повышением температуры. Однако более высокие значения ОП не влияли на восстановление; Таблица 16 не показывает статистических различий (значение  $p$  ANOVA 0,116 > 0,05 (альфа)) между результатами образцов при 20 °C (68 °F) и более высоких температурах ELISA. Для сравнения, более низкие температуры на уровне 16 °C (61 °F) или ниже влияют на извлечение образцов Trilogy по сравнению с 20 °C (68 °F) и приводят к более высоким значениям ( $p$ -значение ANOVA 0,005 < 0,05 (альфа)).

Таблица 15: Изменение температуры инкубации от 16 °C до 33 °C (61 °F - 91 °F) для всей процедуры ELISA с одной партией; Показаны значения OD и В/В<sub>0</sub> для калибраторов.

| Калибратор        | мг/кг | 16 °C |                      | 20 °C |                      | 24 °C |                      | 28 °C |                      | 33 °C |                      |
|-------------------|-------|-------|----------------------|-------|----------------------|-------|----------------------|-------|----------------------|-------|----------------------|
|                   |       | OD    | В/В <sub>0</sub> (%) | OD    | В/В <sub>0</sub> (%) | OD    | В/В <sub>0</sub> (%) | OD    | В/В <sub>0</sub> (%) | OD    | В/В <sub>0</sub> (%) |
| 1                 | 0     | 1.618 | 100.0                | 1.948 | 100.00               | 2.207 | 100.0                | 2.905 | 100.0                | 3.054 | 100.0                |
| 2                 | 0.25  | 1.281 | 79.2                 | 1.600 | 82.1                 | 1.907 | 86.4                 | 2.520 | 86.7                 | 2.690 | 88.1                 |
| 3                 | 0.5   | 1.097 | 67.8                 | 1.345 | 69.0                 | 1.639 | 74.3                 | 2.174 | 74.8                 | 2.408 | 78.8                 |
| 4                 | 1     | 0.702 | 43.4                 | 0.861 | 44.2                 | 1.078 | 48.8                 | 1.518 | 52.3                 | 1.816 | 59.5                 |
| 5                 | 3     | 0.363 | 22.4                 | 0.443 | 22.7                 | 0.581 | 26.3                 | 0.849 | 29.2                 | 0.994 | 32.5                 |
| 6                 | 9     | 0.199 | 12.3                 | 0.236 | 12.1                 | 0.283 | 12.8                 | 0.416 | 14.3                 | 0.522 | 17.1                 |
| 50 % доза (мг/кг) |       | 0.83  |                      | 0.85  |                      | 0.97  |                      | 1.1   |                      | 1.4   |                      |

Таблица 16: Изменение температуры инкубации от 16 °C до 33 °C (61–91 °F) для всей процедуры ELISA с одной партией. Были протестированы пять различных эталонных материалов Trilogy и один смешанный образец (эталонный материал Trilogy, обедненный пустым образцом кукурузы). Результаты представлены в мг/кг. Извлечения за пределами 70 - 130 % отмечены звездочкой\*.

| образцы           | мг/кг | 16 °C  |           | 20 °C  |           | 24 °C  |           | 28 °C  |           | 33 °C  |           |
|-------------------|-------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|
|                   |       | мг/кг  | Извл. (%) | мг/кг  | Извл. (%) | мг/кг  | Извл. (%) | мг/кг  | Извл. (%) | мг/кг  | Извл. (%) |
| F-C-470           | хол.  | < 0.25 | n/a       | < 0.25 | n/a       | < 0.25 | n/a       | < 0.25 | n/a       | < 0.25 | n/a       |
| Mix (488)<br>0.35 | 0.35  | 0.46   | 133*      | 0.40   | 114       | 0.42   | 120       | 0.35   | 100       | 0.33   | 95        |
| F-C-488           | 0.5   | 0.60   | 121       | 0.54   | 108       | 0.52   | 104       | 0.49   | 97        | 0.51   | 102       |
| F-C-468           | 1     | 1.18   | 118       | 1.00   | 100       | 1.00   | 100       | 0.94   | 94        | 1.00   | 100       |
| F-C-493           | 3.1   | 4.83   | 156*      | 3.14   | 101       | 3.56   | 115       | 3.06   | 99        | 2.81   | 91        |
| F-C-494           | 7.7   | 10.16  | 132*      | 7.57   | 98        | 8.04   | 104       | 7.43   | 96        | 7.84   | 102       |



# RIDASCREEN® FAST Фумонизин ECO

Арт. No. R5603

## 6.2 Исследования стабильности

Стабильность аналита определяли с использованием образца кукурузы Trilogy и образца корма для животных Trilogy. Оба образца экстрагировали, а затем разбавляли в буфере для разбавления образцов. Разбавленные экстракты измеряли сразу (0 ч) в n=3 технических повторностях и хранили на лабораторном столе при комнатной температуре до следующего измерения. Измерения повторяли через 2, 4, 6 и 24 часа (таблица 17).

Таблица 17: Стабильность аналита в экстрагированных и разведенных образцах кукурузы и кормов для животных из Trilogy в течение 24 часов при комнатной температуре.

| RT (h) | F-C-450RB (4.1 мг/кг) |         | MT-SF-9967 (7.2 мг/кг) |         |
|--------|-----------------------|---------|------------------------|---------|
|        | мг/кг                 | Извл. % | мг/кг                  | Извл. % |
| 0      | 4.92                  | 120     | 7.78                   | 108     |
|        | 5.04                  | 123     | 8.04                   | 112     |
|        | 4.71                  | 115     | 7.43                   | 103     |
| 2      | 4.29                  | 105     | 7.84                   | 109     |
|        | 4.78                  | 117     | 7.75                   | 108     |
|        | 5.04                  | 123     | 7.58                   | 105     |
| 4      | 4.85                  | 118     | 9.08                   | 126     |
|        | 4.95                  | 121     | 8.29                   | 115     |
|        | 5.31                  | 130     | 8.24                   | 114     |
| 6      | 4.72                  | 115     | 7.56                   | 105     |
|        | 4.72                  | 115     | 7.91                   | 110     |
|        | 5.05                  | 123     | 8.28                   | 115     |
| 24     | 4.14                  | 101     | 6.58                   | 91      |
|        | 4.23                  | 103     | 8.2                    | 114     |
|        | 3.82                  | 93      | 7.52                   | 104     |