

RIDA[®] Ochratoxin A column

Colonne di immunoaffinità per la pulizia dei campioni
prima dell'analisi dell'ocratossina A

Art. No.: R1303

Test in vitro

Conservare a 2 - 8 °C

R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Telefax: +49 (0) 61 51 81 02-20

Prodotto da:

R-Biopharm AG
An der neuen Bergstr. 17
D-64297 Darmstadt
www.r-biopharm.de

Per informazioni

Telefono:

Centralino (0 61 51) 81 02-0

Telefax / E-Mail:

Ordini (0 61 51) 81 02-20
orders@r-biopharm.de

Marketing

(0 61 51) 81 02-40
info@r-biopharm.de

Distribuito da:

R-Biopharm Italia Srl
Via dell'Artigianato 19
20070 Cerro al Lambro MI
Telefono 02 9823 3330

info@r-biopharm.it – www.r-biopharm.com

RIDA[®] e RIDASCREEN[®]
sono marchi registrati della R-BIOPHARM AG
Produttore: R-BIOPHARM AG, Darmstadt, Germania

R-BIOPHARM AG è certificata ISO 9001

RIDA® Ochratoxin A column

Introduzione

RIDA® Ochratoxin A column (Art. No.: R1303) è un test che impiega colonne di immunoaffinità per la pulizia dei campioni prima dell'analisi dell'Ocratossina A in alimenti e mangimi.

Il test a codice R1303 contiene 10 colonne di immunoaffinità da utilizzarsi singolarmente.

Sospensione in gel:	Sefarosio
Anticorpo:	anticorpo monoclonale coniugato a Sefarosio
Volume max. applicato:	60 ml
Flusso:	1 goccia/secondo
Limite di rilevazione:	a seconda del volume di campione applicato e del metodo di rilevazione
Capacità della colonna:	ca. 200 ng di ocratossina A

1. Generale

RIDA® Ochratoxin A si utilizzano, in combinazione con i test immunoenzimatici (RIDASCREEN® Ochratoxin A 30/15 e FAST Ochratoxin A) per l'analisi quantitativa dell'ocratossina A.

La preparazione dei campioni con colonne di immunoaffinità semplifica e migliora la procedura di pulizia dei campioni. Gli estratti puri ottenuti possono essere dosati con diversi metodi analitici.

2. Principio del test

La base del test è una reazione antigene-anticorpo.

La colonna contiene una sospensione in gel cui sono attaccati con legami covalenti gli anticorpi monoclonali, specifici per l'ocratossina A.

- A: Il campione viene introdotto e fatto passare attraverso la colonna. Se è presente ocratossina A, questa si legherà agli anticorpi monoclonali.
- B: Tutte le altre sostanze non vengono trattenute nella colonna.
- C: Utilizzando metanolo come eluente l'ocratossina viene rilasciata dal complesso antigene-anticorpo. Il metanolo causa una denaturazione degli anticorpi che provoca la liberazione dell'antigene (ocratossina A), che può essere eluito.

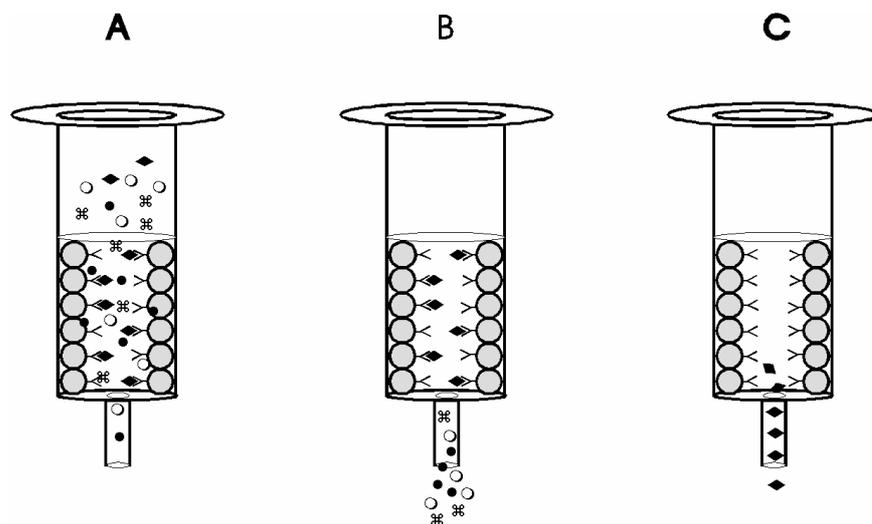


Fig. 1: Principio di una colonna di immunoaffinità

3. Reagenti forniti

Con le colonne di immunoaffinità è possibile eseguire 10 preparazioni del campione, una per colonna). Ogni kit contiene:

10 colonne di immunoaffinità

4. Materiale richiesto ma non fornito

4.1. Attrezzatura

- bilancia da laboratorio
- macinino da laboratorio o da caffè
- centrifuga
- agitatore
- agitatore magnetico
- filtro in carta
- siringhe in plastica monovia (per il campione)
- unità per la creazione del vuoto per l'uso contemporaneo di più colonne
- pipette graduate
- pipette pasteur
- pipette da 20-200 µl e da 200-1000 µl a volume variabile

4.2. Reagenti

- metanolo
- acetonitrile
- n-eptano (o esano)
- soluzione PBS 20 mM/metanolo a pH 7.4 (90/10 v/v):
0,55 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ + 2,85 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ + 9 g NaCl, portare a 1 l con acqua distillata/metanolo (90/10)
- tampone di bicarbonato di sodio 0.13 M a pH 8.1:
miscelare 10.92 g di NaHCO_3 con acqua distillata e portare a 1 l, il pH sarà pari a ca. 8.1

5. Avvertenze e precauzioni per gli utilizzatori

L'ocratossina A è tossica e cancerogena: maneggiare con attenzione. Evitare il contatto con la cute. (usare guanti).

La decontaminazione della vetreria e delle soluzioni contenenti la tossina deve essere eseguita mediante immersione in soluzione 10% v/v di sodio ipoclorito (candeggina) per una notte (portare a pH 7 con HCl).

6. Conservazione

Conservare le colonne di immunoaffinità a 2-8°C (35 -47°F). NON CONGELARE.

Riporre le colonne inutilizzate nella busta originale e conservare a 2-8°C (35-46°F).

La garanzia di qualità non è valida oltre la data di scadenza indicata sulla confezione.

7. Preparazione dei campioni

Conservare i campioni in un luogo fresco, al riparo dalla luce.

L'ocratossina A è fotosensibile, quindi è bene evitare di esporre i campioni e i loro estratti alla luce diretta.

In base al seguente protocollo di estrazione il volume reale del campione introdotto nella colonna equivale a 1 g del campione iniziale. Al variare di questo quantitativo può essere aumentato o diminuito il limite di rilevazione, che dipende dal metodo analitico utilizzato.

7.1. Cereali e malto

- pesare 10 g del campione precedentemente macinato ed addizionarlo in una provetta con tappo a vite a 20 ml di soluzione di acetonitrile/acqua (60/40 v/v)
- miscelare bene per 20 minuti (preferibilmente in senso orizzontale)
- filtrare la soluzione con un filtro di carta utilizzando un imbuto e conservare il filtrato
- sgrassare aggiungendo 5 ml di n-eptano a 5 ml di filtrato
- miscelare per 5-10 minuti
- centrifugare per 5 minuti a 3000 g e a temperatura ambiente (20-25°C / 68-77°F)
- asportare completamente lo strato superiore di eptano

- diluire 2 ml del filtrato sgrassato (equivalente a 1 g del campione) con 13 ml di tampone PBS
- far passare attraverso la colonna l'intero quantitativo della soluzione col campione (=15 ml)

Nota:

Contattando i rivenditori di zona è possibile ricevere ulteriori metodiche di preparazione per RIDASCREEN[®] Ochratoxin A 30/15 (R1311) in combinazione con RIDA[®] Ochratoxin A columns.

- per il caffè verde e tostato
- per il vino
- per la frutta secca

Contattando i rivenditori di zona è possibile ricevere ulteriori metodiche di preparazione per RIDASCREEN[®]FAST Ochratoxin A (R5402) in combinazione con RIDA[®] Ochratoxin A columns.

- per il caffè verde e tostato
- per il vino
- per la frutta secca

Con le colonne RIDA[®] Ochratoxin A si possono utilizzare anche campioni preparati con altre metodiche, che devono essere forniti in soluzioni acquose contenenti al massimo il 10% di metanolo.

8. Separazione con le colonne RIDA[®] Ochratoxin A

8.1. Indicazioni preliminari

Portare le colonne a temperatura ambiente (20-25°C / 68-77°F) prima dell'uso.

Riporre le colonne inutilizzate nella confezione originale e conservarle a 2-8°C (35-46°F).

Note:

Le colonne sono fornite senza adattatore per il contenitore del campione.

Le colonne sono chiuse con tappi superiore ed inferiore che devono essere rimossi prima dell'uso. Il tampone di conservazione sopra il gel è eliminato con il primo passaggio di lavaggio.

Le colonne non devono andare a secco durante l'uso. Eccezioni: par. 8.2., punto 9 (breve rimozione dei fluidi residui dal gel della colonna prima dell'eluizione) e punto 13 (rimozione completa dei fluidi residui dopo l'eluizione).

Una eccessiva pressione sulla colonna può causare compressione del gel e conseguenti recuperi ridotti.

8.2. Lavaggio

Non far asciugare le colonne!

1. Equilibrare la colonna lavando con 2 ml di soluzione PBS/metanolo (90/10)
2. Riempire la colonna con circa 1 ml di estratto del campione
3. Applicare un adattatore adeguato sulla sommità della colonna e utilizzare una siringa per dispensare il campione
4. Riempire la siringa con il resto dell'estratto del campione
5. Passare lentamente la soluzione di campione attraverso la colonna (con un flusso continuo di circa 1 goccia/sec.). Creare una pressione positiva utilizzando una siringa o assorbire se si usa un'unità di creazione del vuoto)
6. Eliminare la soluzione passata in colonna
7. Lavare la colonna con 10 ml di soluzione PBS/metanolo (90/10)
8. Eliminare la soluzione passata in colonna
9. Far passare un flusso d'aria o di azoto attraverso la colonna per eliminare ogni residuo di liquido
10. Rimuovere la siringa e porre una provetta pulita e richiudibile direttamente sotto la colonna.
11. Eluire con 1 ml di metanolo 100% nella colonna; il metanolo deve passare **lentamente** attraverso la colonna (flusso: 1 goccia/sec), in modo da assicurare la completa eluizione della tossina
12. In caso di passaggio troppo rapido attraverso la colonna (più di 10 sec.), raccogliere l'eluato e passarlo nuovamente attraverso la colonna
13. press air thoroughly through the column or absorb with vacuum for 30 sec to collect all eluat residues

9. Rilevazione e quantificazione

9.1. RIDASCREEN® Ochratoxin A 30/15 (R1311)

- evaporare l'eluato contenente la tossina (equivalente a 1 g di cereali/malto) fino a completo essiccamento a ca. 60°C (140°F), se possibile mediante un leggero flusso di azoto
- ridisciogliere il residuo secco in 1 ml di tampone bicarbonato di sodio 0.13 M agitando mediante vortex o per immersione per 3-5 minuti in bagno ad ultrasuoni
- utilizzare 50 µl per pozzetto nel saggio mediante RIDASCREEN® Ochratoxin A 30/15

Nota:

Per ottenere la concentrazione di ocratossina A in ng/kg effettivamente contenuta nel campione, è necessario moltiplicare la concentrazione letta dalla curva di calibrazione per il fattore di diluizione corrispondente.

In base al protocollo indicato alla sezione 7. *Preparazione dei campioni*, facendo passare 15 ml di estratto di cereali/malto attraverso la colonna si ottiene il seguente fattore di diluizione:

cereali/malto: 1

intervallo di misura: da 50 ng/kg (ppt) a 1800 ng/kg (ppt)

Indicazioni per la conservazione dei campioni e degli estratti:

campioni originali: devono essere sempre tenuti in frigorifero, asciutti, al riparo dalla luce e ben sigillati

eluati contenenti metanolo: conservare in ambiente fresco e al riparo dalla luce; l'eluato può durare anche 2-3 mesi se congelato, sigillato e protetto dalla luce

estratti del campione: si conservano solo 2-3 giorni in tampone di bicarbonato di sodio (vedi par. 9.1., dopo evaporazione dell'eluato) a 2-8°C (35-46°F)

R-Biopharm non fornisce alcuna garanzia, esplicita o implicita, oltre a quella relativa alla qualità standard dei materiali di cui sono costituiti i suoi prodotti. Nel caso tali materiali risultassero difettosi, R-Biopharm si impegna a fornire prodotti sostitutivi. Non esiste garanzia di commerciabilità o di idoneità del prodotto per uno scopo particolare. R-Biopharm non è da ritenersi responsabile per danni, ivi compresi danni speciali o indiretti, o spese derivanti direttamente o indirettamente dall'utilizzo del prodotto