



# **RIDASCREEN<sup>®</sup> T-2 / HT-2 Toxin**

**Art. Nr. R3805**

Test immunoenzimatico per l'analisi quantitativa  
di tossina T-2 e HT-2

Test in vitro

Conservare a 2 - 8 °C

Prodotto da:  
R-Biopharm AG  
An der neuen Bergstraße 17  
D-64297 Darmstadt  
[www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)

Per informazioni

Telefono:

Centralino (0 61 51) 81 02-0

Telefax / E-mail:

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

Marketing

(0 61 51) 81 02-40  
[info@r-biopharm.de](mailto:info@r-biopharm.de)

Distribuito da:

R-Biopharm Italia Srl  
Via Morandi 10  
20077 Melegnano MI  
Telefono 02 9823 3330  
[info@r-biopharm.it](mailto:info@r-biopharm.it) - [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)

RIDA<sup>®</sup> e RIDASCREEN<sup>®</sup>  
sono marchi registrati della R-BIOPHARM AG  
Produttore: R-BIOPHARM AG, Darmstadt, Germania

R-BIOPHARM AG è certificata ISO 9001

# RIDASCREEN<sup>®</sup> T-2/ HT-2 Toxin

## Introduzione

RIDASCREEN<sup>®</sup> T-2 / HT-2 Toxin (Cod.: R3805) è un immunodosaggio enzimatico competitivo per l'analisi quantitativa delle tossine T-2 e HT-2 in avena, mais, orzo e frumento.

Tutti i reagenti richiesti per l'analisi immunoenzimatica – compresi gli standard - sono contenuti nel kit.

Il kit è sufficiente per 96 determinazioni (inclusi gli standard).

Per la quantificazione è richiesto uno spettrofotometro per micropiastre.

Preparazione campioni: estrazione, filtrazione e diluizione

Tempo richiesto: preparazione campioni (per 10 campioni) .... ca. 30 min  
esecuzione del test (tempo d'incubazione) ..... 45 min

Limite di rilevabilità: mais ..... ca 12 ppb (12 µg/kg)  
(corrispondente alla  
sostanza standard) avena..... ca 16 ppb (16µg/kg)  
frumento ..... ca 21 ppb (21 µg/kg)  
orzo ..... ca 33 ppb (33 µg/kg)

Recupero: campioni di avena naturalmente contaminati ..ca 105%  
materiali di riferimento Trilogy<sup>®</sup>  
(frumento, mais) .....ca 105%  
campioni di frumento, orzo, mais arricchiti .. ca 95 %  
campioni di avena arricchiti.....ca 75%

Specificità: La specificità di RIDASCREEN<sup>®</sup> T-2 / HT-2 Toxin è stata stabilita analizzando le cross-reattività con le micotossine corrispondenti in un sistema tampone. Nei campioni, la specificità può risultare differente rispetto a quanto determinato in un sistema tampone a causa dell'effetto matrice. Prima di analizzare le sostanze cross-reattive, l'utilizzatore deve determinare il limite di rilevabilità ed i valori di recupero della sostanza nella rispettiva matrice. Il test non è in grado di differenziare tra analita e sostanze cross-reattive.

Tossina HT-2 .....	100 %
Tossina T-2.....	ca. 85 %
T-2 triolo .....	< 0.5 %
T-2 tetraolo .....	< 0.5 %

Al fine di aumentare la qualità delle prestazioni durante l'esecuzione di procedure ELISA, si prega di far riferimento al nostro Good ELISA Practice (GEP) – Manual, nella versione aggiornata. Qui si elencano gli standard minimi riguardanti le condizioni di lavoro quando si utilizzano i kit di R-Biopharm AG e si eseguono test ELISA. Il manuale può essere visionato, stampato e scaricato direttamente dal nostro sito [www.rbiopharm.com/products/food-feed-analysis](http://www.rbiopharm.com/products/food-feed-analysis) .

### **Prodotti correlati:**

RIDA<sup>®</sup> QUICK T-2 / HT-2 Toxin RQS (R5304)

RIDASCREEN<sup>®</sup> FAST T-2 Toxin (R5302)

RIDASCREEN<sup>®</sup> T-2 Toxin (R3801)

EASI-EXTRAT<sup>®</sup> T-2 / HT-2 (RBRP43; RBRP43B)

TRILOGY<sup>®</sup> Liquid and Dried Standard T-2 (TSL-314; TS-314)

TRILOGY<sup>®</sup> Liquid and Dried Standard HT-2 (TSL-333; TS-333)

## **1. Scopo**

RIDASCREEN<sup>®</sup> T-2 Toxin è un immunodosaggio enzimatico per l'analisi quantitativa delle tossine T-2 e HT-2 in avena, mais, orzo e frumento.

## **2. Generale**

Le tossine T-2 e HT-2 appartengono al gruppo dei tricoteceni prodotti dal genere *Fusarium*. Le tossine T-2 e HT-2 sono spesso presenti nei prodotti agricoli, sebbene la loro incidenza e concentrazione mostri un'ampia variabilità regionale. A causa della loro capacità citotossica e immunosoppressiva sono un rischio sia per la salute umana che per la salute animale.

## **3. Principio del test**

Il test si basa su una reazione antigene-anticorpo. I pozzetti della micropiastra sono rivestiti con anticorpi di cattura specifici per gli anticorpi anti-tossina T-2 e HT-2. Nei pozzetti si aggiungono gli standard o le soluzioni campione, la tossina T-2 coniugata con enzima e anticorpi anti-tossina T-2/ HT-2. La tossina T-2/ HT-2 libera e la tossina T-2 coniugata all'enzima competono per legarsi ai siti di legame

dell'anticorpo anti-tossina T-2/ HT-2 (analisi immunoenzimatica competitiva). In contemporanea gli anticorpi anti-tossina T-2/ HT-2 vengono immobilizzati dagli anticorpi di cattura rivestiti nei pozzetti. Il coniugato non legato viene quindi eliminato con un lavaggio. Nei pozzetti viene poi aggiunta e incubata la soluzione di substrato /cromogeno ed il coniugato legato all'enzima trasforma il cromogeno incolore in un prodotto blu. L'aggiunta della soluzione di arresto provoca un viraggio del colore da blu a giallo. La determinazione quantitativa viene eseguita fotometricamente a 450 nm. Il valore di assorbanza è inversamente proporzionale alla concentrazione di tossina T-2/ HT-2 nel campione.

#### 4. Reagenti forniti

Ogni kit contiene materiale sufficiente per 96 analisi (incluse le analisi degli standard). Ogni kit contiene:

Componente	Colore del tappo	Formato		Quantità
<b>Micropiastra M</b>	-	Pronto all'uso		96 pozzetti
<b>2 X Extractor Buffer oats</b>	bianco	Concentrato	10 x	120 ml ciascuno
<b>Standard 1</b>	bianco	Pronto all'uso	0 µg/l	1.3 ml
<b>Standard 2</b>	bianco	Pronto all'uso	1 µg/l	1.3 ml
<b>Standard 3</b>	bianco	Pronto all'uso	3 µg/l	1.3 ml
<b>Standard 4</b>	bianco	Pronto all'uso	6 µg/l	1.3 ml
<b>Standard 5</b>	bianco	Pronto all'uso	12 µg/l	1.3 ml
<b>Standard 6</b>	bianco	Pronto all'uso	36 µg/l	1.3 ml
<b>Wash buffer salt</b>		Sali da sciogliere		
<b>Conjugate</b>	Rosso	Pronto all'uso		6 ml
<b>Antibody</b>	Nero	Pronto all'uso		6 ml
<b>Substrate/Chromogen</b> Red Chromogen Pro	Marrone	Pronto all'uso		10 ml
<b>Stop solution</b>	Giallo	Pronto all'uso		14 ml

#### 5. Materiale richiesto ma non fornito

##### 5.1. Attrezzatura:

- spettrofotometro per micropiastre (450 nm)
- tritatore (macinino)
- centrifuga
- micropipette variabili da 20 µl – 200 µl e 200-1000 µl

## 5.2. Reagenti:

- metanolo (70%)
- metanolo (35%) per ulteriori diluizioni di campioni altamente contaminati
- acqua distillata o deionizzata

## 6. Avvertenze e precauzioni per gli utilizzatori

Il test deve essere eseguito da personale di laboratorio qualificato. Le istruzioni per l'uso devono essere seguite scrupolosamente.

Le soluzioni standard contengono tossina HT-2: prestare particolare attenzione. Evitare il contatto del reagente con la cute (indossare i guanti).

La decontaminazione della vetreria e delle soluzioni contenenti le micotossine deve essere eseguita con una soluzione (10% v/v) di ipoclorito di sodio (candeggina) per una notte (regolare il pH della soluzione portandolo a 7 con l'aggiunta di HCl).

Il kit può contenere ulteriori sostanze pericolose. Per maggiori dettagli sulle sostanze contenute consultare le appropriate schede di sicurezza (MSDS), disponibili online all'indirizzo [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

## 7. Conservazione

Conservare il kit a 2-8°C (35-46°F). Non congelare alcun componente del kit.

I pozzetti non utilizzati vanno riposti insieme all'essiccante nella loro confezione originale, che deve essere ben richiusa e conservata a 2-8°C (35-46°F).

La tossina HT-2 è fotosensibile: evitarne l'esposizione alla luce diretta.

La soluzione substrato/cromogeno incolore è fotosensibile: evitarne l'esposizione alla luce diretta.

Non si accettano garanzie di qualità oltre la data di scadenza indicata sulla confezione.

Non scambiare singoli reagenti appartenenti a confezioni con numeri di lotto differenti.

## 8. Indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

- Qualsiasi colorazione bluastra della soluzione cromogeno, prima dell'esecuzione del test
- Un valore di assorbanza (450 nm) relativo allo zero standard inferiore a 0,6

## 9. Preparazione dei campioni

I campioni devono essere conservati in luogo fresco e al riparo dalla luce.

Macinare un campione rappresentativo (in accordo alle tecniche di campionamento comunemente attuate) e miscelarlo accuratamente in un mixer prima della procedura di estrazione.

### 9.1. Avena

Per la preparazione dei campioni di avena, è necessario utilizzare uno specifico tampone di estrazione. Si prega di utilizzare il tampone concentrato contenuto nel kit per campioni di avena e di diluirlo 1:10 (esempio 10 ml + 90 ml di acqua distillata) per ottenere un tampone di estrazione pronto all'uso.

Il tampone di estrazione pronto all'uso può essere conservato a 2 – 8°C (36 – 46 °F) e scade dopo circa 8-10 settimane.

- pesare 5 g del campione ed aggiungere 25 ml di tampone di estrazione, per campioni di avena, pronto all'uso \*)
- agitare bene (capovolto) per 10 minuti
- centrifugare per 10 min/ 3000 g/ temperatura ambiente (20-25°C/68-77°F)
- diluire il surnatante 1:2 (1+1) con acqua metanolo/acqua distillata (70/30; v/v) (es. 1 ml di surnatante + 1 ml µl di metanolo/acqua distillata (70/30; v/v))
- utilizzare 50 µl per ogni pozzetto

\*) La quantità di campione può essere aumentata, se necessario, ma deve essere aumentato in proporzione anche il volume di tampone di estrazione per campioni di avena pronto all'uso. Ad esempio: 25 g in 125 ml di tampone di estrazione pronto all'uso oppure 50 g di campione in 250 ml tampone di estrazione pronto all'uso. Il tampone contenuto nel kit sarà a questo punto sufficiente per un numero di campioni di avena inferiore.

## 9.2. Cereali (mais, orzo, frumento)

- pesare 5 g del campione e addizionarlo con 25 ml di metanolo/acqua distillata (70/30 (v/v)) per l'estrazione \*)
- agitare bene (capovolto) per 10 minuti
- centrifugare per 10 min/ 3000 g/ temperatura ambiente (20-25°C/68-77°F)
- diluire il surnatante 1:2 (1+1) con acqua distillata (es. 1 ml di surnatante + 1 ml di acqua distillata)
- utilizzare 50 µl per ogni pozzetto

\*) La quantità di campione può essere aumentata se necessario, ma deve essere aumentato in proporzione anche il volume di metanolo/acqua distillata (70/30 (v/v)), ad esempio: 25 g in 125 ml di metanolo/acqua distillata (70/30 (v/v)) oppure 50 g in 250 ml di metanolo/acqua (70/30 (v/v))

### Nota:

**Per concentrazioni attese di tossina T-2/HT-2 elevate (>360 ppb), la soluzione estratta diluita 1:2 deve essere ulteriormente diluita, per es. 1:10 (1+9) con metanolo (35%) (es 50 µl di soluzione estratta diluita + 450 µl di metanolo al 35%). Ciò comporta un ulteriore fattore di diluizione pari a 10.**

## 10. Esecuzione del test

### 10.1. Indicazioni preliminari

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

Come **tampone di lavaggio** è necessario un buffer PBS Tween. Si raccomanda di usare il sale di lavaggio contenuto nella busta inclusa nel kit (vedi paragrafo 4), sciogliendone il contenuto in un litro di acqua distillata. Il tampone di lavaggio pronto all'uso si conserva per circa 4-6 settimane a una temperatura di 2-8°C (36-46°F)

In alternativa: Sciogliere il contenuto della busta in soli 100 ml di acqua distillata per ottenere un tampone di lavaggio concentrato 10 volte. Questa soluzione scade dopo circa 8-12 settimane se conservata a temperatura ambiente (20-25°C/68-77°F). Utilizzare 1 parte di questa soluzione concentrata e mescolarla con 9 parti di acqua distillata per ottenere una soluzione di lavaggio pronta all'uso.

## 10.2. Procedura di esecuzione del test

Eeguire attentamente la procedura di lavaggio raccomandata. Evitare l'essiccamento dei pozzetti durante i vari passaggi.

1. Inserire nel supporto un numero di pozzetti sufficiente per l'analisi sia degli standard che dei campioni e registrare le rispettive posizioni.
2. Pipettare 50 µl di soluzione standard o di campione in ogni pozzetto in duplicato utilizzando un nuovo puntale per ogni soluzione standard e per ogni campione.
3. Aggiungere 50 µl di enzima coniugato sul fondo di ciascun pozzetto.
4. Aggiungere 50 µl di anticorpo specifico per tossina T-2/HT2 in ogni pozzetto. Miscelare delicatamente facendo oscillare manualmente la piastra e incubare per 30 minuti a temperatura ambiente (20-25°C / 68-77°F).
5. Eliminare il liquido dai pozzetti rovesciando la piastra su un contenitore e picchiare energicamente la piastra capovolta su carta assorbente per eliminare ogni residuo di liquido. Riempire i pozzetti con 250 µl di tampone di lavaggio (10.1) ed eliminare nuovamente il liquido. Ripetere altre due volte.
6. In ogni pozzetto pipettare 100 µl di substrato/cromogeno. Miscelare delicatamente facendo oscillare manualmente la piastra e incubare per 15 minuti a temperatura ambiente (20-25°C / 68-77°F) e al buio.
7. Pipettare 100 µl di soluzione di stop in ogni pozzetto. Miscelare delicatamente facendo oscillare manualmente la piastra e leggere le assorbanze a 450 nm. Leggere entro 30 minuti dall'aggiunta dello stop.

## 11. Risultati

Per la valutazione dei test immunoenzimatici RIDASCREEN® è disponibile un apposito software, denominato RIDA® SOFT Win (Art. No. Z9996).

Il profilo della curva standard è illustrato nel Certificato di Assicurazione di Qualità (Quality Assurance Certificate) allegato.

Nota per il calcolo eseguito senza l'apposito software:

$$\frac{\text{Assorbanza dello standard (o campione)}}{\text{Assorbanza standard 0}} \times 100 = \% \text{ assorbimento}$$

Lo standard zero risulta pertanto essere il 100% e i valori di assorbanza sono quotati in percentuale. I valori calcolati per gli standard vanno inseriti in un sistema di coordinate su scala semilogaritmica contro la concentrazione di tossina T-2/HT-2 espressa in µg/kg.

Per ottenere la concentrazione di tossina T-2 e HT-2 in µg/kg effettivamente contenuta nel campione, la concentrazione calcolata dalla curva standard deve essere moltiplicata per il fattore di diluizione corrispondente. Operando secondo le procedure descritte, i fattori di diluizione da applicare sono i seguenti:

avena e cereali (mais, orzo, frumento) ..... 10 (100)

Pertanto la curva standard è compresa in un intervallo da 10 a 360 µg/kg (ppb) di tossina T-2/HT-2 per il grano (oppure in un intervallo da 100 a 3600 µg/kg (ppb)).

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.