

RIDASCREEN[®] FAST Citrinin

Art. No. R6302

Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung
von Citrinin

Enzyme immunoassay for the quantitative determination
of citrinin

Inmunoensayo enzimático para el análisis cuantitativo de
citrinina

In vitro Test

Lagerung bei 2 - 8 °C
Storage at 2 - 8 °C

Für weitere Fragen stehen Ihnen gerne zur Verfügung:

Please contact for questions and further information:

Zentrale/Switchboard

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

Auftragsannahme/Order department

Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-20

E-Mail: orders@r-biopharm.de

Marketing & Vertrieb/Marketing & sales

Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-40

E-Mail : info@r-biopharm.de

RIDA® und RIDASCREEN®
sind eingetragene Marken der R-Biopharm AG
Hersteller: R-Biopharm AG, Darmstadt, Deutschland

R-Biopharm AG ist ISO 9001 zertifiziert.

RIDA® and RIDASCREEN®
are registered trademarks of R-Biopharm AG
Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

RIDA® y RIDASCREEN®
son marcas registradas de la empresa R-Biopharm AG
Fabricante: R-Biopharm AG, Darmstadt, Alemania

R-Biopharm AG está certificada por el ISO 9001.

Kurzinformation

RIDASCREEN®FAST Citrinin (Art. Nr. R6302) ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Citrinin in Getreide und Futtermitteln.

Alle Reagenzien für die Durchführung des Enzymimmunoassays – inkl. Standards - sind im Testkit enthalten.

Ein Testkit ist ausreichend für 48 Bestimmungen (einschl. Standardbestimmungen).

Zur Auswertung benötigt man ein Mikrotiterplatten-Photometer.

Probenvorbereitung: extrahieren, filtrieren und verdünnen

Zeitbedarf: Probenvorbereitung (für 10 Proben)..... ca. 10 min
Testdurchführung (Inkubationszeit).....25 min

Nachweisgrenze: 15 µg/kg (ppb)
(bezogen auf die
Standardsubstanz)

Zur Erhöhung der Prüfungsqualität bei ELISA-Verfahren verweisen wir zusätzlich auf unser ELISA-Handbuch in der jeweiligen Fassung. Dieses führt Mindeststandards hinsichtlich der Rahmenbedingungen auf, die bei der Verwendung von Testsystemen der R-Biopharm AG und der Durchführung von ELISA-Analysen mit diesen Testsystemen zu beachten sind. Das Handbuch kann unter der Webseite www.r-biopharm.com/de/produkte/lebensmittel-futtermittel-analytik abgerufen, gedruckt und gespeichert werden.

Produktangebot

TRILOGY® Dried Standard Citrinin (TS-904)

EASI-EXTRACT® CITRININ (R6302)

1. Verwendungszweck

RIDASCREEN®FAST Citrinin ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Citrinin in Getreide und Futtermitteln.

2. Allgemeines

Das Mykotoxin Citrinin wird von Pilzen der Gattung *Aspergillus*, *Penicillium* und *Monascus* Arten gebildet. Da diese Schimmelpilze Citrinin und/oder Ochratoxin A produzieren können, treten beide Mykotoxine häufig gemeinsam auf.

Citrinin wurde 1953 von japanischen Autoren in gelb verfärbtem Reis nachgewiesen und die Infektion des Korns konnte auf *Penicillium citrinum* zurückgeführt werden. Citrinin kommt in Getreide, wie Weizen, Gerste, Roggen, Hafer, Mais und Reis vor und hat wie Ochratoxin A in erster Linie nephrotoxische Wirkungen.

Für das Wachstum Citrinin-produzierender Schimmelpilze auf Getreide ist ein Feuchtigkeitsgehalt von 16,5 bis 19,5 % die unterste Grenze.

3. Testprinzip

Grundlage ist die Antigen-Antikörper-Reaktion. Die Vertiefungen der Mikrotiterstreifen sind mit Citrinin beschichtet. Zugegeben werden Standards bzw. Probe-lösung und anti-Citrinin Antikörper. Freies und immobilisiertes Citrinin konkurrieren um die Citrinin-Antikörperbindungsstellen (kompetitiver Enzymimmunoassay). Nach einem Waschschrift werden Peroxidase-markierte Sekundärantikörper zugegeben, die an die gebundenen anti-Citrinin Antikörper binden. Nicht gebundene, enzymmarkierte Antikörper werden anschließend in einem Waschschrift wieder entfernt. Hinzugegeben wird Substrat/Chromogen und gebundenes Enzymkonjugat (Peroxidase-markierter Sekundärantikörper) wandelt das Chromogen in ein blaues Endprodukt um. Die Zugabe der Stopp-Lösung führt zu einem Farbumschlag von blau nach gelb. Die Messung erfolgt photometrisch bei 450 nm. Die Extinktion der Lösung ist umgekehrt proportional zur Citrinin-Konzentration in der Probe.

4. Packungsinhalt

Mit den Reagenzien einer Packung können bis zu 43 Bestimmungen durchgeführt werden (plus 5 Standardbestimmungen). Jeder Testkit enthält:

Komponente	Deckelfarbe	Zustand		Inhalt
Microtiter plate Mikrotiterplatte	-	gebrauchsfertig		48 Kavitäten
Standard 1* Standard 1	weiß	gebrauchsfertig	0 µg/L	1,3 mL
Standard 2* Standard 2	weiß	gebrauchsfertig	15 µg/L	1,3 mL
Standard 3* Standard 3	weiß	gebrauchsfertig	45 µg/L	1,3 mL
Standard 4* Standard 4	weiß	gebrauchsfertig	135 µg/L	1,3 mL
Standard 5* Standard 5	weiß	gebrauchsfertig	405 µg/L	1,3 mL
Conjugate Konjugat	rot	gebrauchsfertig		6 mL
Antibody Antikörper	schwarz	gebrauchsfertig		3 mL
Substrate/Chromogen Substrat/Chromogen Red Chromogen	braun	gebrauchsfertig		10 mL
Stop solution Stopp-Lösung	gelb	gebrauchsfertig		14 mL

*) Die Konzentrationsangaben berücksichtigen bereits den Verdünnungsfaktor 5, der sich aus der Probenvorbereitung ergibt. So können Citrinin-Konzentrationen der Proben direkt aus der Standardkurve abgelesen werden.

5. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

5.1. Geräte

- Mikrotiterplatten-Photometer (450 nm)
- Messzylinder (Plastik oder Glas) 100 ml
- zur Probenvorbereitung: Filtertrichter und Auffanggefäß (50 ml)
- Labor- oder Getreidemühle
- optional: Schüttler
- Filterpapier: Whatman No. 1 oder Vergleichbares
- 50 µl, 100 µl und 1000 µl Mikropipetten

5.2. Reagenzien

- 70 % Methanol: 70 ml Methanol (100 %) mit 30 ml dest. Wasser mischen
- destilliertes oder deionisiertes Wasser

6. Vorsichtsmaßnahmen

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.

Die Standards enthalten Citrinin. Vorsicht ist geboten, Hautkontakt vermeiden (Handschuhe tragen).

Die Dekontamination der Glasgeräte und toxischen Lösungen erfolgt am zweckmäßigsten mit einer Natriumhypochlorit-Lösung (10 % (v/v)) über Nacht (Lösung mit HCl auf pH 7 einstellen).

Dieser Kit kann gesundheitsgefährdende Substanzen enthalten. Sicherheitshinweise zu den enthaltenen Komponenten entnehmen Sie bitte den Sicherheitsdatenblättern (MSDS) zu diesem Produkt auf unserer Internetseite www.r-biopharm.de.

7. Reagenzien und ihre Lagerung

Die Reagenzien bei 2 - 8 °C lagern. **Komponenten des Testkits auf keinen Fall einfrieren.**

Nicht benötigte Kavitäten zusammen mit dem Trockenmittel im Folienbeutel gut verschlossen aufbewahren und weiterhin bei 2 - 8 °C lagern.

Das rötlich gefärbte Substrat/Chromogen ist lichtempfindlich, deshalb direkte Lichteinwirkung vermeiden.

Nach Ablauf des Verfallsdatums (siehe Testkit-Außenetikett unter Expiration) kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.

Der Test kann bei entsprechender Lagerung mindestens bis zum Verfallsdatum (angegeben auf der Kitpackung) für eine ordnungsgemäße Analyse eingesetzt werden.

Ein Austausch von Einzelreagenzien zwischen Kits verschiedener Chargennummern ist nicht zulässig

8. Anzeichen für Reagenzienverfall

- bläuliche Färbung des rötlichen Substrat/Chromogen vor Zugabe in die Kavitäten
- Extinktion kleiner 0,6 ($E_{450\text{ nm}} < 0,6$) für den Nullstandard

9. Probenvorbereitung

Die Proben kühl und lichtgeschützt lagern.

Alle Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) bringen und den Test bei Raumtemperatur durchführen.

Eine repräsentative Probe (eine unter offiziellen Probenahme-Vorschriften gezogene Probe) vor dem Extrahieren zerkleinern und mischen.

- 5 g der zerkleinerten Probe einwiegen und 12,5 ml Methanol (70 %)* hinzufügen
- 3 min kräftig schütteln (manuell oder mittels Schüttler)
- den Extrakt durch einen Whatman No. 1 Papierfilter filtrieren
- 1 ml des Filtrats mit 1 ml destilliertem oder deionisiertem Wasser verdünnen
- 50 µl Filtrat pro Kavität im Test einsetzen

*) das Probenvolumen kann vergrößert werden, dazu muss das Volumen des Methanol/Wasser Gemisches entsprechend angepasst werden

10. Testdurchführung

10.1. Testvorbereitungen

1. Alle Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) bringen.
2. Die spezifische Reaktion startet erst mit der Zugabe des spezifischen Antikörpers. Wenn eine einfache Pipette eingesetzt wird, sollten trotzdem nicht mehr als drei Streifen pro Testansatz eingesetzt werden. Bis zu 6 Streifen können bei Verwendung von Multistep-Pipetten eingesetzt werden.
3. Nicht verwendete Reagenzien sofort wieder bei 2 - 8 °C lagern.

Die **Citrinin Standards** liegen gebrauchsfertig vor. Der Verdünnungsfaktor 5 für die Proben wurde beim Etikettieren der Standardfläschchen bereits berücksichtigt. Deshalb kann die Citrinin-Konzentration der Proben direkt aus der Standardkurve abgelesen werden.

10.2. Testdurchführung

Sorgfältiges Waschen ist sehr wichtig. Ein komplettes Eintrocknen der Kavitäten zwischen den Arbeitsschritten und verzögerte Intervalle zwischen den Arbeitsschritten vermeiden. Die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse hängt in starkem Maße vom gleichmäßigen Waschen der Kavitäten ab. Die beschriebenen Waschsequenzen deshalb immer einhalten.

Bei allen Inkubationen direkte Sonneneinstrahlung vermeiden und deshalb die Mikrotiterplatten abdecken.

1. So viele Kavitäten in den Halterahmen einsetzen, wie für alle Standards und Proben benötigt werden. Die Positionen der Standards und der Proben protokollieren.
2. 50 µl Standard oder vorbereitete Probe in die entsprechenden Kavitäten pipettieren; für jeden Standard oder Probe neue Pipettenspitzen benutzen.
3. Je 50 µl Antikörper in die entsprechenden Kavitäten pipettieren, vorsichtig manuell mischen und 10 min (+/- 1) bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubieren.
4. Die Kavitäten durch Ausschlagen der Flüssigkeit leeren und die Restflüssigkeit durch kräftiges Ausklopfen (dreimal hintereinander) auf sauberen, saugfähigen Labortüchern entfernen. Die Kavitäten mit Hilfe einer Waschflasche oder Multikanal-Pipette (250 µl pro Kavität) mit destilliertem Wasser waschen, die Kavitäten leeren und die Restflüssigkeit entfernen. Diesen Waschvorgang noch zweimal wiederholen.
5. 100 µl der Konjugat (Sekundärantikörper) in jede Kavität pipettieren. Vorsichtig manuell mischen und 10 min (+/- 1) bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubieren.
6. Die Kavitäten durch Ausschlagen der Flüssigkeit leeren und die Restflüssigkeit durch kräftiges Ausklopfen (dreimal hintereinander) auf sauberen, saugfähigen Labortüchern entfernen. Die Kavitäten mit Hilfe einer Waschflasche oder Multikanal-Pipette (250 µl pro Kavität) mit destilliertem Wasser waschen, die Kavitäten leeren und die Restflüssigkeit entfernen. Diesen Waschvorgang noch zweimal wiederholen.
7. 100 µl Substrat/Chromogen in jede Kavität pipettieren. Vorsichtig manuell mischen und 5 min (+/- 0,5) bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) im Dunkeln inkubieren.
8. 100 µl Stopp-Lösung in jede Kavität pipettieren. Vorsichtig manuell mischen und die Extinktion bei 450 nm innerhalb von 10 min nach Zugabe der Stopp-Lösung messen.

11. Auswertung

Für die Auswertung ist bei R-Biopharm eine speziell für die RIDASCREEN® Enzymimmunoassays entwickelte Software, die RIDA®SOFT Win.net (Art. Nr. Z9996), erhältlich.

Wir empfehlen für Einzelbestimmungen die Auswertung mit Logit/log und für Doppel- oder Mehrfachbestimmungen sollte Cubic Spline verwendet werden.

Der Verlauf der Standardkurve kann dem beigefügten Analysenzertifikat entnommen werden.

Hinweis für die Berechnung ohne Software:

$$\frac{\text{Extinktion Standard (bzw. Probe)}}{\text{Extinktion Nullstandard}} \times 100 = \% \text{ Extinktion}$$

Den Nullstandard somit gleich 100 % setzen und die Extinktionswerte in Prozent angeben. Die errechneten Werte für die Standards in einem Koordinatensystem auf halblogarithmischem Millimeterpapier gegen die Citrinin-Konzentration [$\mu\text{g}/\text{kg}$] auftragen. Die Citrinin-Konzentration in $\mu\text{g}/\text{kg}$ kann entsprechend der Extinktion jeder Probe aus der Standardkurve abgelesen werden.

Diese Angaben entsprechen dem heutigen Stand unserer Kenntnisse und sollen über unsere Produkte und deren Anwendungsmöglichkeiten informieren. Sie haben somit nicht die Bedeutung, bestimmte Eigenschaften der Produkte oder deren Eignung für einen konkreten Einsatzzweck zuzusichern. R-Biopharm übernimmt keine Gewährleistung, außer für die standardisierte Qualität der Reagenzien. Defekte Produkte werden ersetzt. Für darüber hinaus gehende direkte, indirekte Schäden oder sonstige Kosten im Zusammenhang mit der Nutzung der Produkte haftet R-Biopharm nicht.

RIDASCREEN®FAST Citrinin

Brief information

RIDASCREEN®FAST Citrinin (Art. No. R6302) is a competitive enzyme immunoassay for the quantitative determination of citrinin in cereals and feed.

All reagents required for the enzyme immunoassay - including standards - are contained in the test kit.

The test kit is sufficient for 48 determinations (including standards).

A microtiter plate spectrophotometer is required for quantification.

Sample preparation: extraction, filtration and dilution

Time requirement: sample preparation (for 10 samples)..... approx. 10 min
test implementation (incubation time).....25 min

Limit of detection: 15 µg/kg (ppb)
(corresponding to the standard substance)

In order to increase the quality of assessment when performing ELISA-procedures, we refer additionally to our Good ELISA Practice (GEP) – manual in the respective version. Such lists minimum standards concerning the framework conditions when using test-kits of R-Biopharm AG and performing ELISA analysis. The manual can be retrieved, printed and downloaded under the website www.r-biopharm.com/products/food-feed-analysis.

Related products

TRILOGY® Dried Standard Citrinin (TS-904)

EASI-EXTRACT® CITRININ (R6302)

1. Intended use

RIDASCREEN®FAST Citrinin assay is a competitive enzyme immunoassay for the quantitative determination of citrinin in cereals and feed.

2. General

The mycotoxin Citrinin is formed by fungi of the species *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Monascus* species. These fungi are able to produce Citrinin and/or Ochratoxin A, therefore both mycotoxins appear together very often.

Citrinin was described for the first time in 1953 by Japanese authors. They detected this mycotoxin in yellow coloured rice which was contaminated with *Penicillium citrinum*.

Citrinin occurs in cereals such as wheat, barley, rye, oats, corn and rice and shows the same nephrotoxic effects as ochratoxin A.

The moisture level of cereals is very important for the development and growth of the citrinin producing fungi, requiring minimum levels of 16.5 to 19.5 %.

3. Test principle

The basis of the test is the antigen-antibody reaction. The microtiter wells are coated with citrinin. Standards, respectively sample solution and anti-citrinin antibodies, are added. Free and immobilized citrinin compete for the citrinin antibody binding sites (competitive enzyme immunoassay). After a washing step, secondary antibodies labeled with peroxidase are added. These bind to the bound anti-citrinin antibodies. Any unbound enzyme conjugated secondary antibodies are then removed in a washing step. Substrate/chromogen is added to the wells, bound enzyme conjugate (secondary antibodies labeled with peroxidase) converts the chromogen into a blue product. The addition of the stop solution leads to a color change from blue to yellow. The measurement is performed photometrically at 450 nm. The absorbance is inversely proportional to the citrinin concentration in the sample.

4. Reagents provided

Each kit contains sufficient materials for as many as 43 analyses (plus 5 standard analyses). Each test kit contains:

Component	Cap color	Format		Volume
Microtiter plate	-	Ready to use		48 wells
Standard 1*	white	Ready to use	0 µg/L	1.3 mL
Standard 2*	white	Ready to use	15 µg/L	1.3 mL
Standard 3*	white	Ready to use	45 µg/L	1.3 mL
Standard 4*	white	Ready to use	135 µg/L	1.3 mL
Standard 5*	white	Ready to use	405 µg/L	1.3 mL
Conjugate	red	Ready to use		6 mL
Antibody	black	Ready to use		3 mL
Substrate/Chromogen Red Chromogen	brown	Ready to use		10 mL
Stop Solution	yellow	Ready to use		14 mL

*) The dilution factor 5 for the sample has been already considered. Therefore, the citrinin concentrations of samples can be read directly from the standard curve.

5. Reagents required but not provided

5.1. Equipment:

- microtiter plate spectrophotometer (450 nm)
- graduated cylinder (plastic or glass) 100 ml
- for preparing sample extract: filter funnel and 50 ml flask
- grinder (mill)
- optional: shaker
- filter paper: Whatman No. 1 or equivalent
- 50 µl, 100 µl and 1000 µl micropipettes

5.2. Reagents:

- 70 % methanol solution: mix 70 ml methanol (100 %) with 30 ml distilled or deionized water
- distilled or deionized water

6. Warnings and precautions for the users

This test should only be carried out by trained laboratory employees. The instruction for use must be strictly followed.

The standards contain citrinin, particular care should be taken. Avoid contact of the reagent with the skin (use gloves).

Decontamination of the glassware and citrinin solutions is best carried out using a sodium hypochlorite solution (10 % (v/v)) overnight (adjust solution with HCl to pH 7).

This kit may contain hazardous substances. For hazard notes on the contained substances please refer to the appropriate material safety data sheets (MSDS) for this product, available online at www.r-biopharm.com.

7. Storage instructions

Store the kit at 2 - 8 °C (36 - 46 °F). **Do not freeze any test kit components.**

Return any unused microwells to their original foil bag, reseal them together with the desiccant provided and further store at 2 - 8 °C (36 - 46 °F).

The reddish substrate/chromogen is light sensitive, therefore, avoid exposure to direct light.

No quality guarantee is accepted after expiry of the kit (see kit label).

The test kit can be regularly used at least up to the expiry date (indicated on the kit package), if stored correctly.

Do not interchange individual reagents between kits of different lot numbers.

8. Indication of instability or deterioration of reagents

- any bluish coloration of the reddish substrate/chromogen prior to test implementation
- a value of less than 0.6 absorbance units ($A_{450\text{ nm}} < 0.6$) for the zero standard

9. Preparation of Samples

The samples should be stored in a cool place, protected from light.

Bring all reagents and samples to room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) before use.

A representative sample (according to accepted sampling techniques) should be ground and thoroughly mixed prior to proceeding with the extraction procedure.

- weigh 5 g of ground sample and add it to a suitable container with 12.5 ml of methanol (70 %) *)
- shake vigorously for 3 min (manually or with shaker)
- filter the extract through Whatman No. 1 filter
- dilute 1 ml of the obtained filtrate with 1 ml of distilled or deionized water
- use 50 µl of the filtrate per well in the test

*) sample size may be increased if required, but the volume of methanol/water must be adapted accordingly

10. Test implementation

10.1. Preliminary comments

1. Bring all reagents to room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) before use.
2. The specific reaction starts with the addition of the specific antibody. Nevertheless, not more than three strips should be applied to the test, when a single step pipette is utilized. More strips (up to 6) can be applied, when a multistep pipette is used.
3. Return all reagents to 2 - 8 °C (36 - 46 °F) immediately after use.

The **citrinin standards** are provided ready to use. The dilution factor 5 for the sample has been considered when labeling. Therefore, the citrinin concentration of samples can be read directly from the standard curve.

10.2. Test procedure

Accurate washing is very important. Do not allow microwells to dry up totally and avoid prolonged intervals between the working steps. Reproducibility in any EIA is largely dependent upon the consistency with which the microwells are washed. Carefully follow the recommended washing sequence as outlined in the EIA test procedure.

Avoid direct sunlight during all incubations. Covering the microtiter plates is recommended.

1. Insert a sufficient number of wells into the microwell holder for all standards and samples to be run. Record standard and sample positions.
2. Pipet 50 μ l of standard or prepared sample into separate wells; use a new pipette tip for each standard or sample.
3. Add 50 μ l of the antibody to each well. Mix gently by shaking the plate manually and incubate for 10 min (+/- 1) at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).
4. Dump the liquid out of the wells into a sink. Tap the microwell holder upside down onto a clean filter towel (three times in a row) to remove all remaining liquid from the wells. Using a wash bottle or multichannel pipette, fill the wells with distilled or deionized water (250 μ l per well). Empty the wells again and remove all remaining liquid. Repeat the washing step two more times.
5. Add 100 μ l of the conjugate (secondary antibody) to the bottom of each well and incubate for 10 min (+/- 1) at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).
6. Dump the liquid out of the wells into a sink. Tap the microwell holder upside down onto a clean filter towel (three times in a row) to remove all remaining liquid from the wells. Using a wash bottle or multichannel pipette, fill the wells with distilled or deionized water (250 μ l per well). Empty the wells again and remove all remaining liquid. Repeat the washing step two more times.
7. Add 100 μ l of substrate/chromogen to each well. Mix gently by shaking the plate manually and incubate for 5 min (+/- 0.5) at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) in the dark.
8. Add 100 μ l of stop solution to each well. Mix gently by shaking the plate manually and measure the absorbance at 450 nm. Read within 10 minutes after addition of stop solution.

11. Results

A special software, the RIDA[®]SOFT Win.net (Art. No. Z9996), is available to evaluate the RIDASCREEN[®] enzyme immunoassays.

For single determinations we recommend logit/log evaluation and for double or multiple determinations cubic spline should be used.

The course of the standard curve is shown in the Quality Assurance Certificate enclosed in the test kit.

Remark for the calculation without software:

$$\frac{\text{absorbance standard (or sample)}}{\text{absorbance zero standard}} \times 100 = \% \text{ absorbance}$$

The zero standard is thus made equal to 100 % and the absorbance values are quoted in percentages. The values calculated for the standards are entered in a system of coordinates on semilogarithmic graph paper against the citrinin concentration [$\mu\text{g}/\text{kg}$]. The citrinin concentration in $\mu\text{g}/\text{kg}$ corresponding to the extinction of each sample can be read from the calibration curve.

The data corresponds to our present state of technology and provides information on our products and their uses. R-Biopharm makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. Defective products will be replaced. There is no warranty of merchantability of this product, or of the fitness of the product for any purpose. R-Biopharm shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.

RIDASCREEN®FAST Citrinin

Información breve

El RIDASCREEN®FAST Citrinin (Art. No. R6302) es un inmunoensayo enzimático (ELISA) competitivo para el análisis cuantitativo de citrinina en cereales y piensos.

Todos los reactivos requeridos para el inmunoensayo enzimático - incluyendo los estándares - están contenidos en el kit.

Un kit alcanza para 48 determinaciones (incluyendo estándares).

Para cuantificar se requiere un espectrofotómetro de microplaca.

Preparación de muestra: extracción, filtración y dilución

Tiempo requerido: preparación de muestra (para 10 muestras)
cereales y piensosaprox. 10 min
implementación del test
(tiempo de incubación)25 min

Límite de detección: 15 µg/kg (ppb)
(respecto a la
sustancia estándar)

Para aumentar la calidad de la evaluación al llevar a cabo procedimientos de ELISA, consultamos también la versión correspondiente de nuestro manual de prácticas recomendadas para ELISA (Good ELISA Practice (GEP) – Manual). En él se indican los estándares mínimos para las condiciones generales cuando se utilizan kits de prueba de R-Biopharm AG y se realizan análisis de ELISA. El manual se puede consultar, imprimir y descargar del sitio web www.r-biopharm.com/products/food-feed-analysis.

Productos relacionados

TRILOGY® Dried Standard Citrinin (TS-904)

EASI-EXTRACT® CITRININ (R6302)

1. Fin del uso

El RIDASCREEN®FAST Citrinin es un inmunoensayo enzimático competitivo para el análisis cuantitativo de citrinina en cereales y piensos.

2. Generalidades

La micotoxina citrinina es producida por los hongos del género *Aspergillus* y *Penicillium* y *Monascus*. Este tipo de hongos puede producir tanto citrinina como ochratoxina A, por lo cual estas dos micotoxinas ocurren comúnmente juntas.

Citrinina fue hallada por primera vez en 1953 por autores japoneses en arroz amarillo, cuya infección era originada por *Penicillium citrinum*.

Citrinina ocurre en cereales como trigo, centeno, avena, maíz, cebada y arroz y posee como ochratoxina A en primera línea efectos nefrotóxicos.

Para el cercimientto de hongos productores de citrinina es necesaria una humedad ambiente de por lo menos entre 16,5 y 19,5 %.

3. Principio del ensayo

El test se basa en la reacción antígeno-anticuerpo. Los pocillos de la microplaca están recubiertos con citrinina. Se agregan estándares de citrinina o la solución de las muestras y anticuerpos anti-citrinina. La citrinina libre y la citrinina inmovilizada compiten para unirse a sitios del anticuerpo anti-citrinina (inmunoensayo enzimático competitivo). Posterior a un paso de lavado se agregan anticuerpos secundarios marcados con peroxidasa el cual se une a los anticuerpos anti-citrinina. El exceso de este último se remueve nuevamente en un proceso de lavado .

Se agrega substrato/cromógeno a los pocillos. El conjugado enzimático unido (anticuerpo secundario marcado con peroxidasa) convierte al cromógeno en un producto azul. La adición de la solución stop lleva a un cambio de color del azul al amarillo. La medición se hace fotométricamente a 450 nm. La absorbancia es inversamente proporcional a la concentración de citrinina en la muestra.

4. Contenido del kit

Con los reactivos de un kit se pueden realizar 43 determinaciones (+ determinación de los 5 estándares). Cada kit contiene:

Componente	Color del tapón	Formato		Contenido
Microtiter plate Placa de microtitulación	-	Lista para usar		48 pocillos
Standard 1* Estándar 1*	blanco	Lista para usar	0 µg/L	1.3 mL
Standard 2* Estándar 2*	blanco	Lista para usar	15 µg/L	1.3 mL
Standard 3* Estándar 3*	blanco	Lista para usar	45 µg/L	1.3 mL
Standard 4* Estándar 4*	blanco	Lista para usar	135 µg/L	1.3 mL
Standard 5* Estándar 5*	blanco	Lista para usar	405 µg/L	1.3 mL
Conjugate Conjugado	rojo	Lista para usar		6 mL
Antibody Anticuerpo	negro	Lista para usar		3 mL
Substrate/Chromogen Red Chromogen Substrato/Cromógeno Cromógeno rojo	marrón	Lista para usar		10 mL
Stop Solution Solución stop	amarillo	Lista para usar		14 mL

*) El factor de dilución 5 que se produce durante la preparación de las muestras ya fue tomado en cuenta en la indicación de las concentraciones. De esta forma se puede leer directamente la concentración de citrinina de las muestras a partir de la curva de los estándares.

5. Reactivos adicionales y accesorios requeridos

5.1. Equipamiento

- espectrofotómetro para placas portapocillos (450 nm)
- probeta graduada de 100 ml de plástico o de vidrio
- para la preparación de las muestras: embudo de filtrado y un vaso de precipitados de vidrio de 50 ml
- molino para desmenuzar las muestras
- opcional: agitador
- papel de filtro: Whatman No. 1 o equivalente
- micropipetas de 50 µl, 100 µl y 1000 µl

5.2. Reactivos

- Solución de metanol al 70 %: mezclar 70 ml de metanol (100 %) con 30 ml de agua destilada
- agua destilada

6. Precauciones

Este análisis debe ser llevado a cabo únicamente por personal entrenado de laboratorio. Las instrucciones para la realización del ensayo deben ser seguidas estrictamente.

Los estándares contienen citrinina, debe tenerse un cuidado particular. Evitar contacto de los reactivos con la piel (usar guantes).

La descontaminación del material de vidrio y de las soluciones que contienen citrinina se realiza incubando éstas durante la noche en una solución de hipoclorito de sodio (10 % (v/v)), (regular el pH de la solución con HCl hasta pH = 7).

Este kit puede contener sustancias peligrosas. Para ver las notas de riesgo de las sustancias que contiene, consultar las hojas de datos de seguridad del material (MSDS) correspondientes para este producto, disponibles en línea en www.r-biopharm.com.

7. Almacenaje de reactivos

Almacene los reactivos entre 2 - 8 °C (36 - 46 °F), **no los congele**.

Guarde los pocillos no utilizados dentro del envase original, séllelo junto con el desecador provisto y continúe con el almacenamiento a 2 - 8 °C (36 - 46 °F).

La solución rojiza del substrato/cromógeno es sensible a la luz, evite por lo tanto su exposición directa.

Después del vencimiento de la fecha de caducidad (vea la etiqueta exterior del kit bajo "Exp.") no se asume más la garantía de calidad.

El test puede ser utilizado normalmente por lo menos hasta la fecha de caducidad (indicada sobre la caja del kit), si es almacenado correctamente.

No intercambie reactivos individuales entre ensayos de diferentes lotes.

8. Indicación de deterioro de los reactivos

- una coloración azulada del substrato/cromógeno rojizo anterior a su adición a los pocillos
- un valor de absorbancia menor a 0,6 unidades ($E_{450\text{ nm}} < 0,6$) para el estándar cero

9. Preparación de las muestras

Las muestras deben ser almacenadas en un lugar fresco, protegidas de la luz. Una muestra representativa (de acuerdo con la técnica de muestreo aceptada) debe ser molida y mezclada.

- pese 5 g de la muestra molida en un contenedor apropiado y agréguele 12,5 ml de metanol al 70 % *)
- agite vigorosamente durante 3 minutos (a mano o utilizando el agitador)
- filtre el extracto a través de un papel de filtro Whatman n. 1
- diluya 1 ml del filtrado con 1 ml de agua destilada
- utilice 50 μ l del filtrado por micropozo para su análisis en el test

*) la cantidad de la muestra puede ser aumentada siempre y cuando el volumen del solvente (mezcla metanol/agua) se aumente respetando el factor de dilución dado

10. Implementación del ensayo

10.1. Preparación del ensayo

1. Llevar todos los reactivos a temperatura ambiente (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) antes de su uso.
2. La reacción comienza con la adición del anticuerpo específico. Sin embargo, no se deberían utilizar más de tres tiras por test si se trabaja con una pipeta monocal. Es posible analizar hasta 6 tiras al mismo tiempo utilizando una pipeta repetidora (multistep).
3. Devuelva todos los reactivos a una temperatura entre 2 - 8 °C (36 - 46 °F) inmediatamente después de ser utilizados.

Los estándares de citrinina se encuentran listos para su uso. El factor de dilución 5 de las muestras ya fue considerado durante el etiquetado de los estándares, por lo tanto la concentración de citrinina en la muestra puede ser leída directamente de la curva de estándares.

10.2. Procedimiento del ensayo

Un lavado exhaustivo es muy importante. No permita que los pocillos se sequen completamente. Evite intervalos prolongados entre los pasos de trabajo. La reproducibilidad de los resultados depende en gran parte de un lavado uniforme de los pocillos. Siga cuidadosamente la secuencia de lavado descrita en el procedimiento.

Cubra los pocillos durante los períodos de incubación evitando así la exposición directa a la luz del sol.

1. Coloque suficientes pocillos en el soporte de la microplaca para los estándares y para las muestras a analizar. Marque la posición de los estándares y de las muestras.
2. Agregue 50 µl de los estándares y de las muestras a analizar a los pocillos correspondientes. Utilice una punta de pipeta nueva para cada estándar y para cada muestra.
3. Agregue 50 µl del anticuerpo a los pocillos correspondientes, mezcle el contenido de la microplaca suavemente e incube durante 10 minutos (+/- 1) a temperatura ambiente (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).
4. Vacíe los pocillos y golpee luego enérgicamente (tres veces consecutivas) el marco portapocillos sobre un papel absorbente limpio para asegurar la eliminación completa de restos líquidos. Lave los pocillos (250 µl por pocillo) con agua destilada utilizando una pipeta-multicanal o una botella de lavado y vacíe nuevamente los pocillos de la forma ya indicada. Repita este paso dos veces más.
5. Agregue 100 µl de conjugado (anticuerpo secundario) a cada micropozo. Mezcle el contenido de la microplaca suavemente e incube durante 10 minutos (+/- 1) a temperatura ambiente (20 - 25 °C / 68 - 77 °F)
6. Vacíe los pocillos y golpee luego enérgicamente (tres veces consecutivas) el marco portapocillos sobre un papel absorbente limpio para asegurar la eliminación completa de restos líquidos. Lave los pocillos (250 µl por pocillo) con agua destilada utilizando una pipeta-multicanal o una botella de lavado y vacíe nuevamente los pocillos de la forma ya indicada. Repita este paso dos veces más.
7. Agregue 100 µl de substrato/cromógeno a cada pocillo. Mezcle el contenido de la microplaca suavemente e incube 5 minutos (+/- 0,5) en la oscuridad a temperatura ambiente (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).
8. Agregue 100 µl de la solución stop a cada pocillo. Mezcle el contenido de la microplaca suavemente y mida la absorción a 450 nm en el transcurso de los siguientes 10 min.

11. Resultados

Para la evaluación y análisis de los resultados se puede obtener de R-Biopharm ó de su distribuidor local un software especial el RIDA®SOFT Win.net (Art. No. Z9996) para los RIDASCREEN® inmunoensayos enzimático.

Para determinaciones individuales recomendamos hacer el análisis usando Logit/log y para determinaciones duplicadas ó múltiples usar Cubic Spline.

El trazado de la curva de estándares se puede ver en el Certificado de Aseguramiento de la Calidad incluido en el ensayo.

Anotación para el cálculo sin el software:

$$\frac{\text{absorbancia estándar (ó muestra)}}{\text{absorbancia estándar cero}} \times 100 = \% \text{ absorbancia}$$

De esta forma, el estándar cero es igual a 100 % y los demás valores de absorción se indican en porcentaje. Los valores calculados para los estándares son aplicados a un sistema de coordenadas en papel semilogarítmico respecto a la concentración de citrinina [µg/kg]. La concentración de citrinina en µg/kg correspondiente a la absorción de cada muestra puede ser leída directamente de la curva de calibrado.

Los datos corresponden al estado actual de la tecnología, y proporcionan información sobre nuestros productos y sus usos. R-Biopharm no ofrece ningún tipo de garantía, ya sea expresa o implícita, excepto que los materiales con los que se fabrican sus productos son de calidad estándar. Se sustituirán los productos defectuosos. No se ofrece ninguna garantía de comerciabilidad de este producto ni de idoneidad del producto para ningún fin. R-Biopharm no se considerará responsable de ningún daño, incluidos los daños especiales o derivados, o gasto derivados directa o indirectamente del uso de este producto.

R-Biopharm AG

Postanschrift / Postal Address:

An der neuen Bergstraße 17

64297 Darmstadt, Germany

Sitz / Corporate Seat: Pfungstadt

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

Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-40

E-mail: info@r-biopharm.de

www.r-biopharm.com

Vorsitzender des Aufsichtsrats /

Chairman of Supervisory Board:

Dietrich Mollat

Vorstand / Board of Management:

Dr. Ralf M. Dreher (Vorsitzender / Chairman),

Dr. Carsten Bruns, Jochen Hirsch, Dr. Peter Schubert

Handelsregister / Commercial Register:

Amtsgericht Darmstadt HRB 8321