

AFLACARD TOTAL

Cod. Prodotto: P38

Test di screening qualitativo per la rilevazione delle aflatossina B1, B2, G1 e G2.
Solo per uso in vitro.

P38/V21/31.03.2022

www.r-biopharm.com



R-BIOPHARM
RHÔNE LTD

Contenuto

	Pag
Principio del Test.....	3
Componenti del Kit.....	3
Reagenti Non Forniti	3
Prodotti Accessori.....	3
Metodi Raccomandati e Note Applicative	3
Rischi	4
Decontaminazione.....	4
Conservazione e Durata	4
Campionamento.....	4
Preparazione del Campione	5
• Cereali e Frutta a Guscio.....	5
• Spezie.....	6
Procedura	7
Lettura dei Risultati del Test.....	7
Note.....	7
Qualità.....	8
Supporto Tecnico.....	8
Garanzia.....	8

Principio del Test

La procedura si basa sulla tecnologia dell'anticorpo monoclonale, che rende il test altamente specifico, sensibile, rapido e semplice da eseguire. La procedura di screening consente di rilevare la presenza di tossine a vari livelli di analisi secondo la normativa Internazionale.

La tossina è estratta dal campione, filtrata e fatta passare attraverso la colonna di purificazione prima di essere diluita ed applicata alla card. Il coniugato è applicato alla membrana e quello che non si è legato viene rimosso mediante lavaggio. Successivamente viene aggiunto substrato incolore e la card viene incubata per 5 minuti. Alla fine si aggiunge la soluzione di stop alla membrana. Una macchia di colore porpora deve apparire nel sito di controllo per indicare che il test è valido. Una macchia di colore porpora nel sito del campione indica che la contaminazione è inferiore rispetto al valore di cut-off della card. Se non si sviluppa alcuna colorazione nel sito del campione significa che la contaminazione è più elevata rispetto al livello di cut-off della card.

L'analisi richiede circa 10 minuti.

Componenti del Kit

- 10 card (20 determinazioni)
- 20 colonne di purificazione
- 20 provette di raccolta del filtrato
- 20 provette di diluizione graduate
- 20 x 3 ml di tampone di diluizione del campione
- 2.5 ml di coniugato pronto all'uso (etichetta rossa)
- 4 ml di tampone di lavaggio (etichetta verde)
- 4 ml di substrato (etichetta blu)
- 4 ml di soluzione di stop (etichetta gialla)

Reagenti Non Forniti

- Acqua distillata o deionizzata (adatta per HPLC, ad esempio MilliQ)
- Metanolo

Prodotti Accessori

- Whatman No. 113 o No. 4

Metodi Raccomandati e Note Applicative

Sono disponibili metodi per tutte le matrici previste dalla normativa nonché ulteriori materie prime. Modifiche rispetto ai metodi descritti nelle istruzioni per l'uso e nelle note applicative non garantiscono risultati ottimali. Per ulteriori informazioni si prega di contattare il proprio distributore locale.

Rischi

Le micotossine sono sostanze molto pericolose. Solo laboratori attrezzati possono eseguire questo tipo di analisi, durante le quali è necessario indossare indumenti protettivi come camici, guanti e occhiali protettivi.

Conservare i solventi infiammabili in un armadietto antiesplorazione. Se possibile, operare sotto cappa chimica ed utilizzare attrezzature protettive.

Per ulteriori informazioni, è possibile contattare il distributore locale R-Biopharm e richiedere la scheda di sicurezza.

Decontaminazione

Le soluzioni standard in eccesso devono essere trattate, prima dello smaltimento, con almeno un decimo del loro volume di ipoclorito di sodio al 5 %. Immergere la strumentazione e il materiale residuo contaminato in una soluzione di ipoclorito di sodio al 5 % per 30 minuti, poi aggiungere il 5 % di acetone e lasciare in ammollo per altri 30 minuti. Sciacquare abbondantemente con acqua prima dello smaltimento. Dopo la decontaminazione lavare scrupolosamente tutta l'attrezzatura di laboratorio utilizzata. Incenerire ove consentito dai regolamenti.

Conservazione e Durata

Le card hanno una validità di 12 mesi dalla data di produzione se conservate a 2 - 8 °C. Non congelare.

Campionamento

E' necessario ottenere un campione sufficientemente rappresentativo seguendo una delle procedure di campionamento ufficialmente riconosciute. Si raccomanda di tritare finemente almeno 1 kg di campione rappresentativo e di prelevare ed estrarre una parte di esso (10 - 50 g in base al metodo utilizzato).

Note Applicative Disponibili

Sono disponibili procedure di analisi per tutte le matrici richieste a livello legislativo nonché note applicative per ulteriori campioni aggiuntivi. Per maggiori informazioni potete contattare il distributore locale R-Biopharm.

Preparazione del Campione

• Cereali e Frutta a Guscio

Questa procedura è stata testata su un certo numero di matrici tra cui frumento, orzo, mais, pistacchi, arachidi, mandorle, noci del Brasile, nocciole e noci di macadamia.

1. Pesare 50 g di campione tritato in un contenitore per miscelatore resistente ai solventi dalla capacità di 1 litro.
2. Aggiungere 100 ml di metanolo all'80 % e mescolare ad alta velocità per 2 minuti.
3. Filtrare il campione utilizzando carta da filtro Whatman N. 113 oppure N. 4. In alternativa centrifugare a 4,000 rpm per 10 minuti.
4. Far passare 5 ml del filtrato attraverso la colonna di purificazione premendo lo stantuffo e raccogliere la soluzione pulita nella provetta di raccolta. Se il filtrato pulito risulta limpido si può procedere con l'analisi. Se invece risulta torbido, è necessario farlo passare nuovamente attraverso la colonna di pulizia.
5. In base al livello di screening richiesto aggiungere l'appropriato volume del filtrato in una provetta di diluizione contenente il corretto volume di metanolo all'80 % secondo la tabella sotto indicata.

Livello di Screening	Volume del Filtrato	Volume di Metalono all'80 %
2 ppb	1 ml	0 ml
4 ppb	1 ml	1 ml
5 ppb	1 ml	1.5 ml
8 ppb	1 ml	3 ml
10 ppb	1 ml	4 ml
12 ppb	1 ml	5 ml
15 ppb	1 ml	6.5 ml
20 ppb	1 ml	9 ml
30 ppb	0.5 ml	7 ml

6. Aggiungere 1 ml del filtrato diluito in una delle fiale contenenti 3 ml del tampone di diluizione del campione.
7. La soluzione purificata è ora pronta per l'analisi. Si prega di far riferimento al paragrafo relativo alla Procedura di analisi.

Preparazione del Campione

• Spezie

Questo metodo è stato testato su diverse spezie tra cui paprika, pepe nero, pepe bianco, noce moscata e peperoncino in polvere.

Nota: è disponibile una nota applicativa specifica per la curcuma.

1. Pesare 50 g di campione tritato in un contenitore per miscelatore resistente ai solventi dalla capacità di 1 litro.
2. Aggiungere 100 ml di metanolo all'80 % e mescolare ad alta velocità per 2 minuti.
3. Filtrare il campione utilizzando carta da filtro Whatman N. 113 oppure N. 4. In alternativa centrifugare a 4,000 rpm per 10 minuti.
4. In base al livello di screening richiesto aggiungere l'appropriato volume del filtrato in una provetta di diluizione contenete il corretto volume di metanolo all'80 % secondo la tabella sotto indicata.

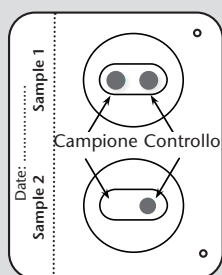
Livello di Screening	Volume del Filtrato	Volume di Metalono all'80 %
2 ppb	1 ml	0 ml
4 ppb	1 ml	1 ml
5 ppb	1 ml	1.5 ml
8 ppb	1 ml	3 ml
10 ppb	1 ml	4 ml
12 ppb	1 ml	5 ml
15 ppb	1 ml	6.5 ml
20 ppb	1 ml	9 ml
30 ppb	0.5 ml	7 ml

5. Aggiungere 1 ml del filtrato diluito in una delle fiale contenenti 3 ml del tampone di diluizione del campione.
6. Far passare il contenuto della vial attraverso la colonna di purificazione premendo lo stantuffo e raccogliere la soluzione pulita nella provetta di raccolta. Se il filtrato pulito risulta limpido si può procedere con l'analisi. Se invece risulta torbido, è necessario farlo passare nuovamente attraverso la colonna di pulizia.
7. La soluzione purificata è ora pronta per l'analisi. Si prega di far riferimento al paragrafo relativo alla Procedura di analisi.

Procedura

1. Prelevare il kit dal frigorifero e lasciarlo a temperatura ambiente per almeno 30 minuti prima di eseguire il test.
2. Applicare 500 µl del campione purificato sulla membrana e lasciarlo filtrare attraverso di essa. Questa operazione non dovrebbe richiedere più di 5 minuti.
3. Una volta che il filtrato è passato attraverso la membrana, applicare 100 µl del coniugato ricostituito (etichetta rossa) e attendere che filtri completamente attraverso di essa.
4. Una volta che il coniugato è passato attraverso la membrana, applicare 100 µl del tampone di lavaggio (etichetta verde). Attendere che filtri attraverso la membrana e ripulire l'area attorno alla porta con della carta assorbente.
5. Applicare 100 µl di substrato (etichetta blu) alla membrana e attendere i 5 minuti necessari perché la membrana si colori (avviare il timer all'aggiunta del substrato).
6. Dopo 5 minuti applicare 100 µl di soluzione di stop (etichetta gialla) e leggere immediatamente i risultati non appena la soluzione di stop è filtrata completamente attraverso la membrana.

Letture dei Risultati



Risultato
Negativo

Il campione è da considerarsi negativo (inferiore rispetto al livello di cut-off) quando il colore sviluppatosi nel pallino del campione e in quello di controllo è chiaramente visibile in entrambi.

Risultato
Positivo

Il campione è da considerarsi positivo (superiore rispetto al livello di cut-off) quando nessun colore è rilevabile nel pallino relativo al campione.

Perché il risultato del test sia valido il pallino di controllo deve assumere una colorazione porpora ben visibile, ma non è necessario che il colore del pallino relativo al campione e quello del pallino di controllo abbiano la stessa intensità. Se vi sono dubbi per quanto riguarda la presenza di un pallino, si consiglia di tenere la card a debita distanza (contro uno sfondo scuro). Se il pallino è chiaramente visibile a distanza, allora può essere considerato come effettivamente presente.

Note

- I due pallini azzurri su ciascuna porta di ogni card non ancora utilizzata scompaiono durante l'esecuzione del saggio. Assicurarsi che siano visibili prima di iniziare l'analisi.
(Nota: possono avere una colorazione molto debole in apparenza)
- Ricorda: è possibile analizzare due campioni su una card, un campione per ciascuna porta. Ogni porta deve avere il suo controllo interno.
- La seconda porta deve essere utilizzata entro una settimana dalla prima porta. Prestare attenzione affinché il sigillo della seconda porta rimanga posizionato correttamente fino a quando non deve essere utilizzato. Si consiglia di staccare delicatamente il sigillo dalla parte della prima porta e tagliarlo, mantenendo la restante parte saldamente in posizione sopra la seconda porta.
- Non utilizzare reagenti appartenenti ad un determinato lotto con reagenti di un lotto differente. Non sostituire i reagenti con quelli di un altro fornitore.
- Assicurarsi sempre che non vi siano bolle d'aria nelle gocce del substrato.
- L'utilizzo di tempi di incubazione differenti rispetto a quelli specificati può causare inaccuratezza dei risultati.
- Prima dell'aggiunta del reagente successivo, lasciare che il liquido si sia completamente assorbito.

Qualità

I prodotti RBR sono sviluppati, prodotti, verificati e spediti in accordo con le normative dei sistemi registrati di gestione della qualità ISO 9001 e ISO 13485 che ne assicurano l'alta e costante qualità e la rispondenza ai requisiti di performance da noi stabiliti. I nostri prodotti sono stati impiegati in molti studi collaborativi per l'elaborazione di metodi standard europei e internazionali e sono largamente utilizzati dai principali enti, industrie alimentari e laboratori governativi. Referenze sui prodotti RBR per i clienti sono disponibili su richiesta.

Supporto tecnico

Sensibile alle richieste di assistenza e suggerimenti che possono emergere da parte della clientela, RBR offre i seguenti servizi:

- Analisi dei campioni problematici
- Procedure per campioni difficili
- Referenze dalla letteratura della biblioteca RBR
- Installazione e supporto della KOBRA® CELL
- Consulenza per i parametri di rilevazione
- Consulenza per la preparazione e la manipolazione degli standard
- Aggiornamenti sulle normative e sulla preparazione dei campioni e altre notizie via e-mail
- Fornitura di campioni arricchiti

Contattare il rivenditore R-Biopharm di zona per ulteriori informazioni.

Garanzia

R-Biopharm Rhône Ltd 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 risultasse difettosi, R-Biopharm Rhône Ltd si impegna a fornire prodotti sostitutivi. L'utilizzatore si assume qualsiasi rischio e responsabilità derivante dall'impiego dei prodotti e delle procedure R-Biopharm Rhône Ltd. R-Biopharm Rhône Ltd non è da ritenersi responsabile per danni, ivi compresi danni speciali o indiretti, o spese derivanti direttamente o indirettamente dall'utilizzo dei prodotti o delle procedure R-Biopharm Rhône Ltd.

Prodotto da:
R-Biopharm Rhône Ltd
Scozia

Distribuito da:
R-Biopharm Italia Srl
Via Morandi, 10
20077 Melegnano MI
Tel: 02 9823 3330
Fax: 02 9834 100
info@r-biopharm.it