



RIDASCREEN[®] FAST DON SC

Art. Nr. R5905

Test immunoenzimatico per il dosaggio quantitativo
di deossinivalenolo

Federal Grain Inspection Services
CERTIFICATE NO. FGIS 2014 - 052

Test in vitro
Conservare a 2 - 8 °C

Prodotto da:

R-Biopharm AG
An der neuen Bergstraße 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 Morandi, 10
20077 Melegnano 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.

Introduzione

RIDASCREEN®FAST DON SC (Art. R5905) è un test immunoenzimatico competitivo per il dosaggio del deossinivalenolo (DON) in cereali, malto e mangimi.

Tutti i reagenti necessari per l'analisi immunoenzimatica, compresi gli standard, sono contenuti nel kit.

Ogni kit contiene il necessario (compresi gli standard) per eseguire 48 determinazioni.

Per la quantificazione è richiesto un lettore di micropiastre.

Preparazione campioni: estrazione e filtrazione

Tempo richiesto: preparazione dei campioni (10 campioni)
cereali e mangimica. 10 min
esecuzione del test (tempo d'incubazione).....8 min

Limite di rilevabilità: 0.074 mg/kg (ppm)

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 .

Prodotti correlati:

RIDASCREEN®FAST DON (R5901/ R5902)

RIDASCREEN® DON (R5906)

RIDA®QUICK DON (R5904)

TRILOGY® Liquid Standard DON (TSL-317)

TRILOGY® Dried Standard DON (TS-310, TS-317)

1. Scopo

RIDASCREEN®FAST DON SC è un test immunoenzimatico competitivo per il dosaggio del deossinivalenolo in cereali, malto e mangimi.

2. Generale

Il deossinivalenolo (DON) appartiene al gruppo di micotossine dei tricoteceni ed è prodotto da funghi del genere *Fusarium*. Il deossinivalenolo è spesso presente nei vegetali, in particolar modo nei cereali. Tra le micotossine dei tricoteceni il deossinivalenolo, il 3-acetil e il 15-acetil-deossinivalenolo sono le più frequenti in Europa e Nord America. Le concentrazioni di tossine rilevate nel frumento, nel mais e nel riso sono spesso dell'ordine dei ppm. Per le loro proprietà citotossiche e immunosoppressive queste tossine rappresentano un rischio per la salute umana e degli animali.

3. Principio del test

La base del test è una reazione antigene-anticorpo. I pozzetti della micropiastrea sono sensibilizzati con anticorpi di cattura specifici per gli anticorpi anti-DON. Nei pozzetti si aggiungono gli standard o le soluzioni dei campioni, l'enzima coniugato al DON e gli anticorpi anti-DON. Il DON libero e quello coniugato all'enzima competono per legarsi ai siti di legame dell'anticorpo (analisi immunoenzimatica competitiva). Allo stesso tempo gli anticorpi anti-DON sono anche legati agli anticorpi di cattura immobilizzati. Il coniugato non legato viene quindi eliminato con un lavaggio. La soluzione di substrato/cromogeno viene aggiunta nei pozzetti, e il coniugato legato trasforma il cromogeno in un prodotto blu. L'aggiunta della soluzione di stop provoca un viraggio del colore da blu a giallo. La determinazione quantitativa viene eseguita con un lettore di micropiastre a 450 nm. Il valore di assorbanza è inversamente proporzionale alla concentrazione di deossinivalenolo nel campione.

4. Reagenti forniti

Ogni kit contiene il materiale necessario per 47 determinazioni più 1 determinazione per gli standard. Ogni kit contiene:

Componente	Colore del tappo	Formato		Quantità
Micropiastra M	-	Pronto all'uso		48 pozzetti
Standard 1*	bianco	Pronto all'uso	0 mg/l	1.3 ml
Wash buffer salt Tween		Sali da sciogliere		
Conjugate	rosso	Pronto all'uso		3 ml
Antibody	nero	Pronto all'uso		3 ml
Substrate/Chromogen Red Chromogen Pro	marrone	Pronto all'uso		10 ml
Stop solution	giallo	Pronto all'uso		14 ml

*) Nel kit è incluso solo lo standard 1 (standard zero, 0 mg/l). La curva standard (B/B_0) è fornita col certificato del kit. Per il calcolo dei risultati vedi cap. 11. Risultati.

5. Materiale richiesto ma non fornito

5.1. Attrezzatura:

- lettore per micropiastre (450 nm)
- cilindro graduato da 100 ml in plastica o vetro
- vetreria per l'estrazione del campione: imbuto e matraccio da 50 ml
- tritatore (macinino)
- facoltativo: Ultra-Turrax o equivalente
- facoltativo : agitatore
- carta da filtro: Whatman No. 1 o equivalente
- micropipette da 20-200 μ l e 200-1000 μ l a volume variabile

5.2. Reagenti:

- acqua distillata o deionizzata

6. Avvertenze e precauzioni per gli utilizzatori

Il test deve essere eseguito solamente da tecnici di laboratorio esperti, seguendo rigorosamente le istruzioni fornite nel kit.

Lo standard contiene deossinivalenolo. Maneggiare con cura. Evitare il contatto con la cute (utilizzare guanti).

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

Il kit può contenere sostanze pericolose. Per ulteriori informazioni sulla sostanze contenute, far riferimento alla scheda di sicurezza (MSDS) scaricabile direttamente online al sito www.r-biopharm.com

7. Conservazione

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

Conservare i pozzetti non utilizzati nella custodia originale chiusa con il dissecante in dotazione 2-8°C (35-46°F).

La soluzione substrato/cromogeno è fotosensibile: evitare di esporla alla luce diretta.

La garanzia di qualità decade alla data di scadenza riportata in etichetta.

Il kit può essere utilizzato almeno fino alla data di scadenza indicata sulla confezione, se conservato correttamente.

Non scambiare singoli reagenti appartenenti a kit con numero di lotto diverso.

8. Indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

- una colorazione bluastra della soluzione substrato/cromogeno, normalmente di colore rosso, prima dell'uso
- un valore di assorbanza relativo allo zero standard inferiore a 0,6 ($A_{450\text{ nm}} < 0,6$)

9. Preparazione dei campioni

I campioni devono essere conservati in un luogo fresco e protetto dalla luce.

Si consiglia di prelevare un campione rappresentativo (secondo le comuni tecniche di campionamento), macinarlo e miscelarlo accuratamente, prima di procedere all'estrazione.

- pesare 5 g di campione macinato e introdurlo in un adeguato contenitore con 100 ml di acqua distillata *)
- miscelare con Ultra-Turrax (o equivalente) per 2 minuti o agitare bene per 3 minuti a mano o con agitatore
- filtrare l'estratto con un filtro di carta Whatman N. 1 o equivalente)
- utilizzare 50 µl del filtrato diluito per ogni pozzetto

*) Si può aumentare la quantità di campione, se necessario: in tal caso regolare corrispondentemente il volume di acqua distillata, ad es. 25 g in 500 ml di acqua distillata o 50 g in 1000 ml di acqua distillata

Metodo di estrazione USDA/GIPSA:

- pesare 50 g del campione macinato e addizionarlo in un opportuno contenitore a 250 ml di acqua distillata
- miscelare con Ultra-Turrax (o equivalente) 2 minuti o agitare bene per 3 minuti a mano o con agitatore
- filtrare l'estratto con un filtro Whatman No. 1 (o equivalente)
- diluire il filtrato ottenuto 1:4 (1+3) con acqua distillata (ad es. 1 ml di estratto con 3 ml di acqua distillata)
- utilizzare 50 µl del filtrato diluito per ogni pozzetto

10. Esecuzione del test

10.1. Indicazioni preliminari

1. Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (20-25°C/68-77°F) prima dell'uso.
2. La reazione ha inizio con l'aggiunta degli anticorpi specifici. Non utilizzare nel test più di tre strip se si usa una pipetta monocanale. È possibile usarne fino a 6 qualora si impieghi una pipetta multicanale.
3. Riportare tutti i reagenti a 2-8°C (35-46°F) immediatamente dopo il loro utilizzo.

Lo **standard 1 di deossinivalenolo (zero standard, 0 mg/l)** è fornito già pronto per l'uso. Il valori B/B₀ degli standard di deossinivalenolo da 2 a 8 (0,074 – 0,222 – 0,666 – 1,333 – 2, 4 e 6 mg/l) sono riportati nel certificato del test. La curva standard è calcolata con l'utilizzo del software RIDA[®]SOFT Win (vedi cap. 11. Risultati), in base a questi valori. Il fattore di diluizione 20 per il campione è già stato considerato in questo calcolo.

Il kit contiene una confezione di bustine di **sale per il lavaggio**. Sciogliere la bustina del tampone PBS incluso nel kit (vedi cap. 4.) in 1 litro di acqua distillata. La soluzione così preparata scade dopo circa 4-6 settimane se conservata a 2-8°C (35-46°F).

In alternativa: Sciogliere il contenuto della busta in 100 ml di acqua distillata per ottenere una soluzione di lavaggio concentrata 10 volte. Utilizzare 1 parte di questa soluzione concentrata e diluirla in 9 parti di acqua distillata per avere la soluzione di lavaggio pronta all'uso.

La soluzione 10x scade dopo ca. 8-12 settimane se conservata a temperatura ambiente (20-25°C/68-77°F).

10.2. Procedura per l'esecuzione del test

È molto importante lavare accuratamente i pozzetti ed evitare che si asciughino completamente. Evitare intervalli protratti tra un passaggio e l'altro del test. La riproducibilità dei saggi immunoenzimatici è strettamente dipendente dall'accuratezza dei lavaggi dei pozzetti, pertanto eseguire la procedura di lavaggio scrupolosamente, come indicato nelle relative istruzioni.

Evitare di esporre la micropiastra a luce diretta durante tutte le incubazioni. A tal fine si raccomanda di coprire la micropiastra.

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 utilizzando un nuovo puntale per ogni soluzione standard e per ogni campione.
3. Aggiungere 50 µl di coniugato in ogni pozzetto.
4. Aggiungere 50 µl di anticorpo in ogni pozzetto. Miscelare delicatamente facendo oscillare manualmente la piastra e incubare per 5 minuti (+/-1) a temperatura ambiente (20-25°C/68-77°F).
5. Eliminare il liquido dai pozzetti. Capovolgere la piastra su carta assorbente e sbattere per eliminare ogni residuo di liquido. Ripetere l'operazione per tre volte. Con un flacone per il lavaggio o una pipetta multicanale riempire i pozzetti (250 µl per ciascun pozzetto) con il tampone di lavaggio ed eliminare nuovamente il liquido. Ripetere la procedura di lavaggio altre due volte.
6. Aggiungere 100 µl di substrato/cromogeno in ogni pozzetto (flacone con tappo marrone). Miscelare delicatamente facendo oscillare la piastra manualmente e incubare per 3 minuti (+/-0,5) a temperatura ambiente (20-25°C/68-77°F) e al buio.
7. Aggiungere 100 µl di soluzione di stop (flacone con tappo giallo) in ogni pozzetto. Miscelare delicatamente facendo oscillare la piastra manualmente e misurare l'assorbanza a 450 nm. Leggere i risultati entro 10 minuti dall'aggiunta della soluzione di stop.

11. Risultati

Per la valutazione dei saggi immunoenzimatici RIDASCREEN® è disponibile un apposito software, denominato RIDA®SOFT Win.net (Art. Z9996).

Per il calcolo dei risultati inserire i valori di assorbanza misurati per lo standard 1 (0 ppm) e i valori B/B₀ per gli standard da 2 a 8 (0,074 – 0,222 – 0,666 – 1,333 – 2, 4 e 6 ppm) forniti nel certificato del kit, nel software RIDA®SOFT Win. Il software calcola la curva standard e il contenuto di deossinivalenolo nei campioni.

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.