



RIDASCREEN[®] FAST Vitamin B12

Art. Nr. R2103

Test immunoenzimatico per l'analisi quantitativa della
vitamina B₁₂

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

RIDASCREEN[®]FAST Vitamin B₁₂

Introduzione

RIDASCREEN[®]FAST Vitamin B₁₂ (Art. R2103) è un immunodosaggio enzimatico competitivo per l'analisi quantitativa della vitamina B₁₂ in latte, latte in polvere, alimenti a scopo medico specifico *, grano e cereali, farina fortificata, vitamine in polvere, miscele, pastiglie e succhi di frutta vitaminici.

Tutti i reagenti richiesti per l'analisi immunoenzimatica – compresi gli standard - sono contenuti nel kit. Il kit è sufficiente per 48 determinazioni (inclusi gli standard). Per la quantificazione è richiesto uno spettrofotometro per micropiastre.

Preparazione campioni: latte: utilizzo diretto, diluizione se necessaria
succhi di frutta: utilizzo diretto, diluizione se necessaria
altre matrici: estrazione, diluizione se necessaria

Tempo richiesto : preparazione campioni (10 campioni) 10 - 60 min
esecuzione del test (tempo di incubazione)..... 25 min

Limite di rilevabilità: 0.5 (ug/L) ppb (nella soluzione di misura **)
(corrispondente alla sostanza standard)

La specificità del kit RIDASCREEN[®] FAST Vitamin B₁₂ è stata determinata analizzando le cross-reattività delle sostanze corrispondenti in un sistema tampone. Nei campioni, la specificità può differire rispetto a quella determinata in un sistema tampone a causa dell'effetto matrice. Prima dell'analisi delle sostanze cross-reattive, l'utilizzatore deve determinare il limite di rilevabilità ed i valori di recupero della sostanza nella rispettiva matrice. Il kit non è in grado di discriminare tra analita e sostanza cross-reattiva.

| | | |
|--------------|--|-----------|
| Specificità: | Vitamina B ₁₂ (cianocobalamina) | 100% |
| | Idrossicobalamina | circa 95% |
| | Metilcobalamina | circa 95% |
| | Adenosilcobalamina (Coenzima B ₁₂) | circa 91% |

* Commission Directive 1999/21/EC on dietary foods for special medical purposes

** vedere Product Info

Al fine di aumentare la qualità della valutazione durante l'esecuzione di metodi ELISA, è disponibile la nostra guida Good ELISA Practice (GEP) che elenca gli standard minimi e le procedure concernenti le condizioni generali di utilizzo dei kit per analisi di R-Biopharm AG e di esecuzione dei test ELISA. Il manuale può essere recuperato, stampato e scaricato dal sito web <http://www.r-biopharm.com/products/food-feed-analysis>.

1. Scopo

Il kit RIDASCREEN® FAST Vitamin B₁₂ è un immunodosaggio enzimatico competitivo per l'analisi quantitativa della vitamina in latte, latte in polvere, alimenti a scopo medico specifico, grano e cereali, farina fortificata, vitamine in polvere, miscele, pastiglie e succhi di frutta vitaminici.

2. Generale

La vitamina B₁₂ appartiene al gruppo delle vitamine solubili in acqua. Non è prodotta dal corpo umano e deve essere introdotta con la dieta. La vitamina B₁₂ è necessaria solo in piccole concentrazioni, tuttavia svolge un ruolo molto importante per il sistema nervoso, ha effetti protettivi per il cuore e svolge un ruolo importante nella biosintesi dei nucleotidi, nell'assunzione di ferro, e nel metabolismo degli amminoacidi. Una mancanza di vitamina B₁₂ può portare ad anemia e deficit neurologici.

3. Principio del test

I pozzetti della micropiastra sono sensibilizzati con anticorpi specifici per la vitamina B₁₂. Nei pozzetti si aggiungono gli standard per la vitamina B₁₂, rispettivamente le soluzioni campione e la vitamina B₁₂ coniugata con l'enzima (enzima coniugato). La vitamina B₁₂ libera e quella coniugata all'enzima competono per legarsi ai siti di legame dell'anticorpo. Il coniugato non legato viene quindi eliminato con un lavaggio. Nei pozzetti viene poi aggiunta la soluzione substrato/cromogeno. Il coniugato enzimatico legato trasforma il cromogeno 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 vitamina B₁₂ nel campione.

4. Reagenti forniti

Ogni kit contiene materiale sufficiente per 48 analisi (inclusi gli standard). Ogni kit contiene:

| Componente | Colore Tappo | Formato | | Volume |
|--|--------------|--------------------|----------------|-------------|
| Micropiastra | - | Pronta all'uso | | 48 pozzetti |
| Sample buffer | Trasparente | Concentrato 2x | 2 x | 125 ml |
| Standard 1 | Bianco | Pronto all'uso | 0 µg/L (ppb) | 1.3 ml |
| Standard 2 | Bianco | Pronto all'uso | 0.5 µg/L (ppb) | 1.3 ml |
| Standard 3 | Bianco | Pronto all'uso | 1.5 µg/L (ppb) | 1.3 ml |
| Standard 4 | Bianco | Pronto all'uso | 4.5 µg/L (ppb) | 1.3 ml |
| Standard 5 | Bianco | Pronto all'uso | 12 µg/L (ppb) | 1.3 ml |
| Standard 6 | Bianco | Pronto all'uso | 30 µg/L (ppb) | 1.3 ml |
| Wash buffer salt Tween | | Sali da sciogliere | | |
| Conjugate | Rosso | Pronto all'uso | | 3 ml |
| Substrate/Chromogen Red Chromogen Pro | Marrone | Pronto all'uso | | 10 ml |
| Stop solution | Giallo | Pronto all'uso | | 14 ml |

5. Materiale richiesto ma non fornito

5.1. Attrezzatura:

- spettrofotometro per micropiastre (450 nm)
- macinino da laboratorio, mortaio, ultra-turrax oppure omogeneizzatore
- centrifuga con relative provette
- bagno termostato (100°C / 212°F)
- bagno di ghiaccio (0°C/32°F)
- shaker
- opzionale: imbuto e carta da filtro
- pipette graduate
- micropipette 20 - 200 µl e 200 - 1000 µl
- opzionale: pipetta multicanale o pipetta da 8 canali

5.2. Reagenti:

- acqua distillata o demineralizzata

6. Avvertenze e precauzioni per gli utilizzatori

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

Questo kit può contenere sostanze pericolose. Per le informazioni sulla pericolosità delle sostanze contenute, consultare le schede di sicurezza (MSDS) appropriate per questo prodotto, disponibili online all'indirizzo www.r-biopharm.com.

7. Conservazione

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

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).

Gli standard, il coniugato e la soluzione substrato/cromogeno sono fotosensibili: evitarne l'esposizione alla luce diretta.

Non si garantisce la qualità del prodotto dopo la data di scadenza (vedi etichetta sulla scatola del kit).

Non scambiare reagenti individuali tra kit con lotti differenti (ad eccezione del tampone per il campione, tampone di lavaggio (sali), soluzione di stop)

8. Indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

- Qualsiasi colorazione bluastra della soluzione substrato/cromogeno normalmente di colore rosso prima dell'analisi
- Valori inferiori a 0,6 unità di assorbanza ($A_{450nm} < 0,6$) per lo standard zero

9. Preparazione dei campioni

I campioni devono essere conservati in un luogo fresco, al riparo dalla luce. I campioni devono essere portati a temperatura ambiente prima del dosaggio (20 - 25 ° C / 68 - 77 ° F). Per il controllo qualità, si raccomanda di analizzare campioni di controllo.

Nota:

I campioni devono essere analizzati il giorno stesso in cui sono estratti.

Il tampone per i campioni può essere utilizzato anche per la preparazione dei campioni contenenti acido folico da analizzare con il kit RIDASCREEN®FAST Folsäure (Folic Acid) (R3203).

9.1. Latte, latte in polvere e alimenti per scopo medico preciso

Latte

- Il latte omogeneizzato può essere analizzato direttamente. Se necessario, diluire i campioni di latte con il tampone per il campione nell'intervallo di analisi (in questo caso è necessario calcolare il nuovo fattore di diluizione)
- utilizzare 50 µL per ogni pozzetto

Latte in polvere e alimenti per scopo medico preciso:

- sospendere 1 g di campione in circa 5 ml di acqua distillate, portare a 10 ml con acqua distillate (fattore di diluizione = 10)
- miscelare per 10 min
- riscaldare il campione diluito per 3 min a 100°C (212°F) in un bagnetto d'acqua, raffreddare rapidamente (in un bagno di ghiaccio), diluire il surnatante o filtrare se necessario con il tampone per il campione nell'intervallo di analisi (in questo caso è necessario calcolare il nuovo fattore di diluizione)
- utilizzare 50 µL di questo liquido per pozzetto

9.2. Grano e cereali

Triturare e miscelare accuratamente un campione rappresentativo prima di avviare la procedura di estrazione (dimensione delle particelle < 250 µm)

- pesare 1 g di campione macinato e introdurlo in un contenitore adatto, sospendere con circa 5 ml di tampone per il campione e portare a 10 ml con il tampone per il campione (fattore di diluizione = 10)
- miscelare per 10 min
- centrifugare (o in alternativa filtrare) per rimuovere tutti i componenti che non si sono disciolti
- prelevare il surnatante e, se ancora torbido, filtrare
- diluire il surnatante o filtrare se necessario con il tampone per il campione nell'intervallo di analisi (in questo caso è necessario calcolare il nuovo fattore di diluizione)
- utilizzare 50 µL di questo liquido per pozzetto

9.3. Farina fortificata

Triturare e miscelare accuratamente un campione rappresentativo prima di avviare la procedura di estrazione (dimensione delle particelle < 250 µm)

- pesare 1 g di campione di farina omogeneizzato e introdurlo in un contenitore adatto, sospendere con circa 5 ml di tampone per il campione e portare a 10 ml con il tampone per il campione (fattore di diluizione = 10)
- miscelare per 10 min
- centrifugare (o in alternativa filtrare) per rimuovere tutti i componenti che non si sono disciolti
- prelevare il surnatante e, se ancora torbido, filtrare
- diluire il surnatante o filtrare se necessario con il tampone per il campione nell'intervallo di analisi (in questo caso è necessario calcolare il nuovo fattore di diluizione)
- utilizzare 50 µL di questo liquido per pozzetto

9.4 Vitamine in polvere, miscele, pastiglie

Vitamine in polvere/miscele

- sciogliere 1 g di vitamina in polvere/miscela in 5 ml di tampone per il campione e portare a 10 ml con il tampone per il campione (fattore di diluizione = 10)

Pastiglie

- Tritare le pastiglie e sciogliere 1 g in 5 ml di tampone per il campione e portare a 10 ml con il tampone per il campione (fattore di diluizione = 10)

Continuare con questi campioni come di seguito descritto:

- miscelare per 10 min
- centrifugare (o in alternativa filtrare) per rimuovere tutti i componenti che non si sono disciolti
- diluire il surnatante o filtrare se necessario con il tampone per il campione nell'intervallo di analisi (in questo caso è necessario calcolare il nuovo fattore di diluizione)
- utilizzare 50 µL di questo liquido per pozzetto

9.5 Succhi vitaminici

- il succo omogeneizzato può essere utilizzato direttamente nell'analisi
- centrifugare (o in alternativa filtrare) per rimuovere tutti i componenti che non si sono disciolti
- diluire se necessario con il tampone per il campione nell'intervallo di analisi (in questo caso è necessario calcolare il nuovo fattore di diluizione)
- utilizzare 50 µL di questo liquido per pozzetto

10. Esecuzione del test

10.1. Indicazioni preliminari

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

Il **tampone per il campione** è fornito concentrato 2X. Diluire il concentrato 1:2 con acqua distillata (ad esempio 50 ml di tampone per il campione concentrato + 50 ml di acqua distillata). Il tampone per il campione diluito scade dopo circa 4-6 settimane se conservato a 2-8°C (36-46°F).

Come **soluzione di lavaggio** è necessario un tampone Tween-PBS. Utilizzare il tampone di lavaggio (busta) contenuto nel kit (vedi punto 4.). Disciogliere tutto il contenuto di tampone della busta in un litro di acqua distillata. La soluzione pronta all'uso scade dopo circa 4 - 6 settimane a 2 - 8 °C (36 - 46 °F).

In alternativa: Disciogliere il contenuto della busta in soli 100 mL di acqua distillata per ottenere un tampone di lavaggio concentrato dieci volte. Questa soluzione scade dopo circa 8 - 12 settimane, conservata a temperatura ambiente (20 - 25 °C / 68 - 77 °F). Utilizzare 1 parte di questo concentrato e discioglierlo in 9 parti di acqua distillata per ottenere il tampone di lavaggio pronto all'uso.

10.2. Procedura per l'esecuzione del test

Gli standard ed i campioni devono essere analizzati sulla micropiastra allo stesso tempo. Seguire attentamente le procedure di lavaggio raccomandate. Evitare di far asciugare i pozzetti durante le fasi di lavoro.

1. Inserire un numero sufficiente di pozzetti nel supporto della micropiastra per tutti gli standard e i campioni da eseguire. Registrare le posizioni ad essi assegnate.
2. Aggiungere 50 μ L di ciascuna soluzione standard o di campione preparato ai pozzetti corrispondenti, utilizzando un puntale nuovo per ogni standard o campione.
3. Introdurre 50 μ L di coniugato in ogni pozzetto (utilizzando una pipetta multicanale oppure una pipetta da 8 canali) ed incubare per 15 minuti a temperatura ambiente (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).
4. Eliminare il liquido dai pozzetti e picchiettare energicamente per 3 volte la piastra capovolta su carta assorbente per eliminare ogni residuo di liquido. Con una pipetta a 8 canali, riempire i pozzetti con il tampone di lavaggio pronto all'uso (250 μ L/pozzetto) (vedi 10.1.). Svuotare nuovamente i pozzetti per eliminare tutto il liquido rimasto. Ripetere l'operazione di lavaggio altre due volte.
5. Aggiungere 100 μ L di substrato/cromogeno (utilizzando una pipetta multicanale oppure una pipetta da 8 canali) in ogni pozzetto ed incubare per 10 minuti a temperatura ambiente (20-25°C / 68-77°F) e al buio.
6. Aggiungere 100 μ l della soluzione di stop (utilizzando una pipetta multicanale oppure una pipetta da 8 canali) in ogni pozzetto e leggere le assorbanze a 450 nm entro 5 minuti.

11. Risultati

Per l'elaborazione dei test ELISA RIDASCREEN® è disponibile uno speciale software denominato RIDA® SOFT Win/ RIDA® SOFT Win.net (codice: Z9996). I risultati sono espressi in µg/L e rispettivamente in µg/100 g e µg/100 ml.

L'andamento della curva standard è visibile nel Certificato di Controllo di Qualità incluso nel kit.

Note per il calcolo senza l'ausilio del software:

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

Lo standard zero è così uguale al 100% e i valori di assorbanza sono calcolati in percentuale. I valori calcolati per gli standard vengono inseriti in un sistema di coordinate su scala semilogaritmica contro le concentrazioni di vitamina B₁₂ espresse in µg/kg o µg/l.

Per ottenere la concentrazione di vitamina B₁₂ effettivamente contenuta in un campione, moltiplicare la concentrazione letta sulla curva di calibrazione per il corrispondente fattore di diluizione.

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.