

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

**REF R3805**

Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung  
von T-2 und HT-2 Toxin

Enzyme immunoassay for the quantitative determination  
of T-2 and HT-2 Toxin

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:

R-Biopharm AG Zentrale  
Tel.: +49 (0) 61 51 - 81 02-0

R-Biopharm AG switchboard  
Phone: +49 (0) 61 51 - 81 02-0

Auftragsannahme  
Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-20  
E-Mail: [orders@r-biopharm.de](mailto:orders@r-biopharm.de)

Order department  
Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-20  
E-mail: [orders@r-biopharm.de](mailto:orders@r-biopharm.de)

Marketing & Vertrieb  
E-Mail: [info@r-biopharm.de](mailto:info@r-biopharm.de)

Marketing & sales  
E-mail: [sales@r-biopharm.de](mailto:sales@r-biopharm.de)

RIDA<sup>®</sup>, RIDASCREEN<sup>®</sup> und RIDASOFT<sup>®</sup>  
sind eingetragene Marken der R-Biopharm AG  
Hersteller: R-Biopharm AG, Darmstadt, Deutschland

R-Biopharm AG ist ISO 9001 zertifiziert.

RIDA<sup>®</sup>, RIDASCREEN<sup>®</sup> and RIDASOFT<sup>®</sup>  
are registered trademarks of R-Biopharm AG  
Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

## Kurzinformation

RIDASCREEN® T-2 / HT-2 Toxin (Art. Nr.: R3805) ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von T-2 und HT-2 Toxin in Hafer, Gerste, Mais und Weizen.

Alle Reagenzien für die Durchführung des Enzymimmunoassays - inkl. Standards - sind im Testkit enthalten. Der Testkit ist ausreichend für maximal 96 Bestimmungen (einschließlich Standardbestimmungen). Zur Auswertung benötigt man ein Mikrotiterplatten-Photometer.

Probenvorbereitung:	extrahieren, zentrifugieren und verdünnen
Zeitbedarf:	Probenvorbereitung (für 10 Proben) .....ca. 30 min Testdurchführung (Inkubationszeit) .....45 min
Messbereich:	10 – 360 µg/kg
Nachweisgrenze LoD: (Matrix-abhängig)	Hafer.....13 ppb (13 µg/kg) Gerste.....11 ppb (11 µg/kg) Mais.....10 ppb (10 µg/kg) Weizen.....14 ppb (14 µg/kg)
Bestimmungsgrenze LoQ:	Hafer.....24 ppb (24 µg/kg) Gerste.....15 ppb (15 µg/kg) Mais.....19 ppb (19 µg/kg) Weizen.....33 ppb (33 µg/kg)
Wiederfindungsrate:	Trilogy® Referenzmaterial (Weizen,Mais).....Mittelwert 96% dotierte Weizen-, Gerste-, Maisproben.Mittelwert 79% dotierte Haferproben.....69% Der RIDASCREEN® T-2 / HT-2 Toxin Test erfasst T-2 / HT-2 Toxin in Mais-, Hafer-, Weizen- und Gersteproben. Die Wiederfindung von Weizen und Mais wurde sowohl mit natürlich kontaminierten als auch mit dotierten Proben validiert. Hafer und Gerste wurden ausschließlich mit dotierten Proben validiert.
Spezifität:	Kreuzreaktivität zu T-2 Toxin.....72%

Die Spezifität des RIDASCREEN® T-2 / HT-2 Toxin Tests wurde durch die Bestimmung der Kreuzreaktivität zu der entsprechenden Substanz im Puffersystem ermittelt. In Proben kann die Spezifität aufgrund von Matrixeffekten von den im Puffersystem ermittelten Werten abweichen. Vor der Analyse von

kreuzreaktiven Substanzen muss deren Nachweisgrenze und Wiederfindungsrate in der jeweiligen Matrix durch den Anwender bestimmt werden. Der Test kann nicht zwischen Analyten und kreuzreaktiven Substanzen diskriminieren.

Zur Erhöhung der Prüfungsqualität bei ELISA-Verfahren verweisen wir zusätzlich auf unser ELISA-Handbuch. 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 <https://food.r-biopharm.com/media/technical-guides/> abgerufen, gedruckt und gespeichert werden.

### **Hinweis:**

Wenn die Validierung mit dotierten Proben erfolgte, können natürlich kontaminierte Proben von unterschiedlichen Getreidesorten zu abweichenden Ergebnissen führen.

### **Produktangebot**

RIDA® QUICK T-2 / HT-2 Toxin RQS ECO (R5304)

RIDASCREEN® FAST T-2 Toxin (R5302)

RIDASCREEN® T-2 Toxin (R3801)

PuriTox Trichothecene (TC-T220)

EASI-EXTRAKT® T-2 / HT-2 (RBRP43; RBRP43B)

DZT MS-PREP® (RBRP73/RBRP73B)

Trilogy® Dried Standard T-2 Toxin (TAS-M24DA1-5)

Trilogy® Liquid Standard T-2 Toxin (TAS-M24LA1-5)

Trilogy® Dried Standard HT-2 Toxin (TAS-M25DA1-5)

Trilogy® Liquid Standard HT-2 Toxin (TAS-M25LA1-5)

## **1. Verwendungszweck**

RIDASCREEN® T-2 / HT-2 Toxin ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von T-2 und HT-2 Toxin in Hafer, Mais, Gerste und Weizen.

## **2. Allgemeines**

Die Mykotoxine T-2 und HT-2 Toxin gehören zur Gruppe der Trichothecene und werden von Pilzen der Gattung *Fusarium* gebildet. Man findet diese Toxine häufig in landwirtschaftlichen Produkten, wobei das Vorkommen und die

Konzentrationen regional sehr unterschiedlich sind. Aufgrund der hohen zytotoxischen und immunsuppressiven Wirkungen stellen T-2 und HT-2 Toxin ein Gesundheitsrisiko für Mensch und Tier dar.

### **3. Testprinzip**

Grundlage ist die Antigen-Antikörper-Reaktion. Die Vertiefungen der Mikrotiterplatte sind mit Fänger-Antikörpern gegen anti-T-2 / HT-2 Toxin-Antikörper beschichtet. Zugegeben werden Standards bzw. Probelösung, sowie enzymmarkiertes T-2 Toxin (Enzymkonjugat) und anti-T-2 / HT-2 Toxin-Antikörper. Freies T-2/ HT-2 Toxin und enzymmarkiertes T-2 Toxin konkurrieren um die T-2 / HT-2 Toxin-Antikörperbindungsstellen (kompetitiver Enzymimmunoassay). Gleichzeitig werden auch die anti-T-2 / HT-2 Toxin-Antikörper von den immobilisierten Fänger-Antikörpern gebunden. Nicht gebundenes, enzymmarkiertes T-2 Toxin wird anschließend in einem Waschschrift wieder entfernt. Der Nachweis erfolgt durch Zugabe von Substrat/Chromogen. Gebundenes Enzymkonjugat 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 T-2 / HT-2 - Toxin-Konzentration in der Probe.

## 4. Packungsinhalt

Mit den Reagenzien einer Packung können 96 Bestimmungen durchgeführt werden (einschließlich Standardbestimmungen). Jedes Testkit enthält:

Komponente	Deckelfarbe	Zustand		Inhalt
<b>Microtiter plate M</b> Mikrotiterplatte M	-	gebrauchsfertig		96 Kavitäten
<b>2x Extractor buffer oats</b> 2 x Extraktionspuffer Hafer	weiß	Konzentrat	10x	je 120 ml
<b>Standard 1</b> Standard 1	weiß	gebrauchsfertig	0 µg/l	1,3 ml
<b>Standard 2</b> Standard 2	weiß	gebrauchsfertig	1 µg/l	1,3 ml
<b>Standard 3</b> Standard 3	weiß	gebrauchsfertig	3 µg/l	1,3 ml
<b>Standard 4</b> Standard 4	weiß	gebrauchsfertig	6 µg/l	1,3 ml
<b>Standard 5</b> Standard 5	weiß	gebrauchsfertig	12 µg/l	1,3 ml
<b>Standard 6</b> Standard 6	weiß	gebrauchsfertig	36 µg/l	1,3 ml
<b>Wash buffer salt</b> Waschpuffer Salz		Salz zum Auflösen		
<b>Conjugate</b> Konjugat	rot	gebrauchsfertig		6 ml
<b>Antibody</b> Antikörper	schwarz	gebrauchsfertig		6 ml
<b>Substrate/Chromogen</b> Substrat/Chromogen Red Chromogen Pro	braun	gebrauchsfertig		10 ml
<b>Stop Solution</b> Stopp Lösung	gelb	gebrauchsfertig		14 ml

## 5. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

### 5.1. Geräte:

- Laborhandschuhe
- Waage (Messbereich mindestens bis zu 50 g, Genauigkeit von  $\pm 0,01$  g)
- Schlagmühle, Mörser, Ultra-Turrax oder Homogenisator
- Mikrotiterplatten-Photometer (450 nm)
- Labormühle
- Zentrifuge
- variable 20 - 200  $\mu$ l und 100 - 1000  $\mu$ l Mikropipetten
- Optional: RIDASOFT® Win.NET Food & Feed (Art. Nr. Z9996FF)
- Optional: Multistepper oder 8-Kanalpipette für 50, 100 und 250  $\mu$ l

### 5.2. Reagenzien:

- Methanol (70 %)
- Methanol (35 %) zur Weiterverdünnung hoch kontaminierter Proben
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser

## 6. Vorsichtsmaßnahmen

Das Produkt / der Test ist ausschließlich zur Anwendung im Rahmen der Zweckbestimmung geeignet.

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

Die Standards enthalten HT-2 Toxin, besondere Vorsicht ist geboten. Hautkontakt mit dem Reagenz vermeiden (Handschuhe verwenden).

Die Dekontamination von Glasgeräten 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 (SDS) zu diesem Produkt auf unserer Internetseite [www.r-biopharm.de](http://www.r-biopharm.de).

Die Kavitäten der Mikrotiterstreifen (beschichtete Mikrotiterplatte aus dem Kit) dürfen nicht wiederverwendet werden. Für jeden Standard und jedes

Probenextrakt separate Pipettenspitzen verwenden, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.

Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch unter Beachtung des Schutzes von Mensch und Umwelt eigenverantwortlich verwertet oder beseitigt werden. Bitte beachten Sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften (z. B. Kreislaufwirtschaftsgesetz, Gefahrenstoffverordnung etc.).

## 7. Reagenzien und ihre Lagerung

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

Für die Entnahme von Mikrotiterstreifen den Folienbeutel erst nach Erreichen der Raumtemperatur (20 - 25 °C) öffnen, um die Bildung von Kondenswasser in den Kavitäten zu vermeiden.

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

HT-2 Toxin ist lichtempfindlich, deshalb die HT-2 Toxin-Standards vor direkter Lichteinwirkung schützen.

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.

Ein Austausch von Einzelreagenzien zwischen Kits verschiedener Chargennummern ist nicht möglich.

## 8. Anzeichen für Reagenzienverfall

- bläuliche Färbung des rötlichen Substrats/Chromogens 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.

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

### 9.1. Hafer

Zur Aufarbeitung von Haferproben wird ein spezieller Extraktionspuffer eingesetzt. Das mitgelieferte Konzentrat des Extraktionspuffers Hafer 1:10 verdünnen (z.B. 10 ml + 90 ml destilliertes Wasser), um den gebrauchsfertigen Extraktionspuffer Hafer zu erhalten. Der gebrauchsfertige Puffer ist bei 2 - 8 °C für ca. 8 - 10 Wochen haltbar.

- 5 g der zerkleinerten Probe einwiegen und 25 ml des gebrauchsfertigen Extraktionspuffers Hafer hinzufügen \*)
- 10 min über Kopf schütteln
- Zentrifugieren: 10 min / 3000 g / Raumtemperatur (20 - 25 °C)
- Den Überstand 1:2 (1+1) mit Methanol/dest. Wasser (70/30; v/v) verdünnen (z. B. 1 ml Überstand + 1 ml Methanol/dest. Wasser (70/30; v/v))
- 50 µl pro Kavität im Test einsetzen

\*) die Probeneinwaage kann entsprechend vergrößert werden, dazu muss das Volumen des Extraktionspuffers Hafer angepasst werden, z.B. 25 g in 125 ml gebrauchsfertigem Extraktionspuffer Hafer oder 50 g in 250 ml gebrauchsfertigem Extraktionspuffer Hafer. Der im Kit enthaltene Extraktionspuffer Hafer reicht dann für entsprechend weniger Haferproben.

### 9.2. Getreide (Gerste, Mais, Weizen)

- 5 g der zerkleinerten Probe einwiegen und in 25 ml Methanol/dest. Wasser (70/30; v/v) lösen \*)
- 10 min über Kopf schütteln
- Zentrifugieren: 10 min / 3000 g / Raumtemperatur (20 - 25 °C)
- Den Überstand 1:2 (1+1) mit dest. Wasser verdünnen (z. B. 1 ml Überstand + 1 ml dest. Wasser)
- 50 µl pro Kavität im Test einsetzen

\*) die Probeneinwaage kann entsprechend vergrößert werden, dazu muss das Volumen von Methanol/dest. Wasser (70/30; v/v) angepasst werden z.B. 25 g

in 125 ml Methanol/dest. Wasser (70/30; v/v) oder 50 g in 250 ml Methanol/dest. Wasser (70/30; v/v)

### **Anmerkung:**

**Bei hohen T-2 / HT-2 Toxingehalten (> 360 ppb) muss der 1:2 verdünnte Extrakt weiter verdünnt werden (z.B. 1:10 (1+9) mit Methanol (35 %), entspricht 50 µl verdünnter Extrakt + 450 µl Methanol (35 %)). Im genannten Beispiel ergäbe sich ein zusätzlicher Verdünnungsfaktor von 10.**

## **10. Testdurchführung**

### 10.1. Testvorbereitungen

Alle Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) bringen.

Als **Waschpuffer** wird ein PBS-Tween-Puffer benötigt, benutzen Sie dazu bitte das beiliegende Waschpuffersalz (siehe 4.). Zur Herstellung des Puffers den gesamten Inhalt des Beutels in 1 l destilliertem Wasser lösen. Der gelöste Waschpuffer ist ca. 4 - 6 Wochen bei 2 - 8 °C haltbar.

Alternativ: Inhalt des Beutels in 100 ml dest. Wasser lösen (10fach Konzentrat). Diese Lösung ist ca. 8 - 12 Wochen bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) haltbar. Um die gebrauchsfertige Lösung herzustellen, 1 Teil des 10fach Konzentrats mit 9 Teilen dest. Wasser mischen.

Nicht verwendete Reagenzien sofort wieder bei 2 - 8 °C lagern.

### 10.2. Testdurchführung

Sorgfältiges Waschen ist sehr wichtig. Ein Eintrocknen der Kavitäten zwischen den Arbeitsschritten vermeiden.

1. So viele Kavitäten in den Halterahmen einsetzen, wie für alle Standards und Proben in Doppelbestimmung benötigt werden. Die Positionen der Standards und der Proben protokollieren.
2. Je 50 µl Standards bzw. die vorbereiteten Proben als Doppelbestimmung in die entsprechenden Kavitäten pipettieren; für jeden Standard oder Probe neue Pipettenspitzen benutzen.
3. Je 50 µl Konjugat in die entsprechenden Kavitäten pipettieren.

4. Je 50 µl Antikörper in jede Kavität pipettieren. Vorsichtig manuell mischen und 30 min bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubieren.
5. Die Kavitäten durch Ausschlagen der Flüssigkeit leeren und die Restflüssigkeit durch kräftiges Ausklopfen (dreimal hintereinander) auf sauberen, saugfähigen Labortüchern entfernen. Die Kavitäten mit jeweils 250 µl Waschpuffer (siehe 10.1.) waschen. Diesen Waschvorgang zwei Mal wiederholen.
6. Je 100 µl Substrat/Chromogen in die entsprechenden Kavitäten pipettieren. Vorsichtig manuell mischen und 15 min bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) im Dunkeln inkubieren.
7. Je 100 µl Stopp-Lösung in jede Kavität pipettieren und vorsichtig manuell mischen. Die Extinktion bei 450 nm innerhalb von 30 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 **RIDASOFT® Win.NET Food & Feed (Art. Nr. Z9996FF)** erhältlich.

Für die Auswertung ist abzuklären, dass für den aktuellen Testlauf alle Qualitätskriterien erfüllt sind. Der Verlauf der Standardkurve kann dem beigefügten Qualitätssicherheitszertifikat (Analysezertifikat) entnommen werden.

Hinweis für die Berechnung ohne Software:

$$\frac{\text{Extinktion Standard (bzw. Probe)}}{\text{Extinktion Nullstandard}} \times 100 = B/B_0 (\%)$$

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 T-2 / HT-2 Toxin-Konzentration [µg/l] auftragen.

## 12. Interpretation der Ergebnisse

Um die in einer Probe enthaltene tatsächliche T-2 und HT-2 Toxin-Konzentration in  $\mu\text{g}/\text{kg}$  zu erhalten, muss die aus der Standardkurve abgelesene Konzentration noch mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multipliziert werden. Beim Arbeiten nach der angegebenen Vorschrift gelten folgende Verdünnungsfaktoren:

Hafer, Mais, Gerste, Weizen..... 10 (bzw. 100\*)

\*siehe 9. Probenvorbereitung, Anmerkung

Der Messbereich der Standardkurve liegt somit zwischen 10 und 360  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (ppb) T-2 / HT-2 Toxin für Hafer und Getreide (bzw. zwischen 100 und 3600  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (ppb)).

Ergebnisse zwischen LoD und LoQ können auf einen geringen Gehalt des untersuchten Analyten in der Probe hinweisen. Ergebnisse sollten deshalb nicht quantitativ als Wert, sondern qualitativ "< LoQ" angegeben werden.

Ein Ergebnis unterhalb der LoD schließt nicht aus, dass eine T-2 / HT-2 Kontamination unterhalb der Nachweisgrenze dieses Tests vorliegt. Die Interpretation des Ergebnisses sollte entsprechend formuliert werden.

Proben mit Extinktionswerten ( $E_{450\text{ nm}}$ ) > Standard 6 können weiter verdünnt und nochmals bestimmt werden. Bei einer weiteren Verdünnung muss der zusätzliche Verdünnungsfaktor bei der Berechnung des Ergebnisses berücksichtigt werden.

Höhere Extinktionswerte ( $E_{450\text{ nm}}$ ) der Standardkurve im Vergleich zu den Daten laut Zertifikat, insbesondere für den Null-Standard, können auf ungenügendes Waschen oder eine T-2 / HT-2 Toxin-Kontamination hinweisen.

## 13. Grenzen der Methode

Testergebnisse können in Abhängigkeit von der Matrix, der Testdurchführung und den Laborbedingungen schwanken.

Nachweisgrenzen (LoD) und Bestimmungsgrenzen (LoQ) sind abhängig von der jeweiligen Probenmatrix, dem Grad der Prozessierung und dem Extraktionsverfahren.

## 14. Empfehlung

Um eine hohe analytische Sicherheit zu gewährleisten wird empfohlen, jede Probe als Doppelbestimmung zu analysieren. Jedes Labor kann für sich nach einer qualifizierten Risiko-Management-Analyse entscheiden, den Test in Einzelbestimmung durchzuführen. Dies hat keinen Einfluss auf die Funktion des Testkits. Es ist aber zu beachten, dass sich hierdurch das Risiko erhöht, Fehler in der Durchführung des Tests (z. B. Pipettierfehler) zu übersehen. Außerdem ist eine höhere Schwankung der Ergebnisse bei Einzelbestimmungen zu erwarten.

Um eine hohe analytische Sicherheit zu gewährleisten wird außerdem empfohlen:

- Pipettenspitzen vor dem Pipettieren jeweils mit Standard oder Probenextrakt vorzuspülen.
- Zur Qualitätskontrolle Testkontrollen mitzuführen. Hierfür sind toxischfreie und toxischhaltige (dotierte) Proben zu verwenden.
- Bei extrem sauren oder basischen Proben den pH-Wert der Probe vor der Extraktion auf neutral (pH 6,5 bis 7,5) einzustellen.
- Zur Prüfung auf richtige und störungsfreie Durchführung der Bestimmung Dotierungsversuche durchzuführen. Ein Beispiel für eine Dotierung ist im Validierungsbericht angegeben.
- Bei der Analyse mittels Automaten (z. B. ThunderBolt® / Bolt™) sich an [info@r-biopharm.de](mailto:info@r-biopharm.de) zu wenden.

## 15. Weitere Applikationen

Weitere Applikationen sind auf Anfrage erhältlich.

**Für weitere Produktinformationen und Applikationen kontaktieren Sie bitte [info@r-biopharm.de](mailto:info@r-biopharm.de).**

## Versionsübersicht

Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2015-09-09	Freigabeversion
2024-01-30	Aktuelle Version Generelle Überarbeitung Vorgenommene Änderungen: – Kurzinformationen – Geräte – Kapitel 12-15. wurden hinzugefügt

## Symbolerklärung

Allgemeine Symbole:



Gebrauchsanweisung beachten



Chargennummer



Verfallsdatum (JJJJ-MM-TT)



Lagertemperatur



Artikelnummer



Anzahl Testbestimmungen



Herstelldatum (JJJJ-MM-TT)



Hersteller + Adresse

## Haftungsausschluss

Der Anwender trägt das alleinige Risiko bei der Verwendung der Produkte und Dienstleistungen der R-Biopharm AG.

Die R-Biopharm AG gewährleistet, dass ihre Produkte und Dienstleistungen allen von ihr festgelegten Qualitätskontrollstandards entsprechen. Die R-Biopharm AG wird nach ihrer Wahl Komponenten, Produkte oder wiederkehrende Dienstleistungen austauschen oder ausbessern, die sich innerhalb produktspezifischer Gewährleistungsfristen oder Ablaufdaten als mangelhaft in der Verarbeitung oder im Material erweisen und die sich nach der Prüfung und im Ermessen der R-Biopharm AG als mangelhaft erweisen.

Diese Gewährleistung tritt an die Stelle jeglicher Gewährleistungen hinsichtlich Qualität, Beschreibung, Eignung für einen bestimmten Zweck, Marktgängigkeit, Produktivität oder anderer Spezifikationen. Die R-Biopharm AG ist in keiner Weise verantwortlich für jegliche Nutzung ihrer Produkte und weist hiermit alle anderen ausdrücklichen oder stillschweigenden Rechtsbehelfe ab, bzw. übernimmt ausdrücklich keine Garantien, Gewährleistungen oder Haftungen, die sich aus dem Gesetz oder anderweitig ergeben. Die R-Biopharm AG übernimmt des Weiteren keine Haftung für entgangenen Gewinn oder Schäden – direkt, indirekt oder anderweitig – an Personen oder Eigentum im Zusammenhang mit der Verwendung ihrer Produkte oder Dienstleistungen.

Diese Haftungsregelung kann nur durch ein schriftliches, von einem autorisierten Vertreter der R-Biopharm AG unterzeichnetes Dokument verlängert, geändert oder ausgetauscht werden.

# RIDASCREEN® T-2 / HT-2 Toxin

## Brief information

RIDASCREEN® T-2 / HT-2 Toxin (Art. No.: R3805) is a competitive enzyme immunoassay for the quantitative analysis of T-2 and HT-2 toxin in oats, barley, corn and wheat.

All reagents required for the enzyme immunoassay, including standards, are contained in the test kit. The test kit is sufficient for a maximum of 96 determinations (including standards). A microtiter plate spectrophotometer is required for quantification.

Sample preparation:	extraction, centrifugation and dilution
Time requirement:	sample preparation (for 10 samples) .....ca. 30 min test run (incubation time) .....45 min
Measuring range:	10 - 360 µg/kg
Limit of detection LoD: (depending on matrix)	Oats.....13 ppb (13 µg/kg) Barley.....11 ppb (11 µg/kg) Corn.....10 ppb (10 µg/kg) Wheat.....14 ppb (14 µg/kg)
Limit of Quantification LoQ:	Oats.....24 ppb (24 µg/kg) Barley.....15 ppb (15 µg/kg) Corn.....19 ppb (19 µg/kg) Wheat.....33 ppb (33 µg/kg)
Recovery rate:	Trilogy® Reference material (Wheat, Corn).mean 96% spiked wheat-, barley-, corn samples.....mean 79% spiked oat samples..... 69% The RIDASCREEN® T-2 / HT-2 Toxin test detects T-2 / HT-2 toxin in corn, oats, wheat, and barley samples. The recovery of wheat and corn was validated with naturally contaminated and spiked samples. Oats and barley were only validated with spiked samples.
Specificity:	Cross-reactivity to T-2 Toxin.....72%

The specificity of the RIDASCREEN® T-2 / HT-2 test was determined by analyzing the cross-reactivities to corresponding substances in buffer system. In samples, the specificity may deviate from those determined in the buffer system due to matrix effects. Prior to the analysis of cross-reactive substances, the user has to determine the Limit of Detection (LoD) and the Recovery for the substance in the respective sample matrix. The test cannot discriminate between analytes and cross-reactive substances.

In order to increase the quality of assessment when performing ELISA procedures, we refer additionally to our Good ELISA Practice brochure. It lists minimum standards and conditions that are required when using test kits of R-Biopharm AG to perform ELISA analysis. The brochure can be retrieved, printed, and downloaded from the website

<https://food.r-biopharm.com/media/technical-guides/>.

### **Note:**

If the validation was carried out with spiked samples, naturally contaminated samples of different grain varieties can lead to deviating results.

### **Related products**

RIDA® QUICK T-2 / HT-2 Toxin RQS ECO (R5304)

RIDASCREEN® FAST T-2 Toxin (R5302)

RIDASCREEN® T-2 Toxin (R3801)

PuriTox Trichothecene (TC-T220)

EASI-EXTRAKT® T-2 / HT-2 (RBRP43; RBRP43B)

DZT MS-PREP® (RBRP73/RBRP73B)

Trilogy® Dried Standard T-2 Toxin (TAS-M24DA1-5)

Trilogy® Liquid Standard T-2 Toxin (TAS-M24LA1-5)

Trilogy® Dried Standard HT-2 Toxin (TAS-M25DA1-5)

Trilogy® Liquid Standard HT-2 Toxin (TAS-M25LA1-5)

### **1. Intended use**

RIDASCREEN® T-2 / HT-2 Toxin is a competitive enzyme immunoassay for the quantitative analysis of T-2 and HT-2 toxin in oats, corn, barley, and wheat.

## 2. General

T-2 and HT-2 toxin belong to the trichothecene group of mycotoxins and are formed by fungi of the genus *Fusarium*. T-2 and HT-2 toxin are often found in agricultural commodities, although the incidence and the concentrations found show a broad regional variation. Due to their high cytotoxic and immunosuppressive mode of action, T-2 / HT-2 toxins are a threat for human and animal health.

## 3. Test principle

The basis of the test is the antigen-antibody reaction. The microtiter wells are coated with capture antibodies directed against anti-T-2 / HT-2 toxin antibodies. Standards or sample solutions, T-2 toxin enzyme conjugate and anti-T-2 / HT-2 toxin antibodies are added. Free T-2 / HT-2 toxin and T-2 toxin enzyme conjugate compete for the T-2 / HT-2 toxin antibody binding sites (competitive enzyme immunoassay). At the same time, the anti-T-2 / HT-2 toxin antibodies are also bound by the immobilized capture antibodies. Any unbound enzyme conjugate is then removed in a washing step. Substrate/Chromogen is added to the wells, bound enzyme conjugate 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 made photometrically at 450 nm. The absorbance is inversely proportional to the T-2 / HT-2 toxin concentration in the sample.

## 4. Reagents provided

Each kit contains sufficient materials for 96 measurements (including standard analyses). Each test kit contains:

Component	Cap color	Format		Volume
Microtiter plate M	-	Ready to use		96 wells
2x Extractor buffer oats	White	Concentrate	10x	120 mL each
Standard 1	White	Ready to use	0 µg/L	1.3 mL
Standard 2	White	Ready to use	1 µg/L	1.3 mL
Standard 3	White	Ready to use	3 µg/L	1.3 mL
Standard 4	White	Ready to use	6 µg/L	1.3 mL
Standard 5	White	Ready to use	12 µg/L	1.3 mL
Standard 6	White	Ready to use	36 µg/L	1.3 mL
Wash buffer salt		Dissolve the salt		
Conjugate	Red	Ready to use		6 mL
Antibody	Black	Ready to use		6 mL
Substrate/Chromogen Red Chromogen Pro	Brown	Ready to use		10 mL
Stop Solution	Yellow	Ready to use		14 mL

## 5. Materials required but not provided

### 5.1. Equipment:

- Gloves
- Scale (measurement range at least up to 50 g and precision of  $\pm 0.01$  g)
- Laboratory mincer / grinder, mortar, ultra-turrax or homogenizer
- Microtiter plate spectrophotometer (450 nm)
- grinder (mill)
- Centrifuge
- Variable 20 - 200 µL and 100 - 1000 µL micropipettes
- Optional: RIDASOFT® Win.NET Food & Feed (Art. No. Z9996FF)
- Optional: Multistepper or 8-channel pipette for 50,100 and 250 µL

## 5.2. Reagents:

- Methanol (70 %)
- Methanol (35 %) for further dilution of high contaminated samples
- Distilled or deionized water

## 6. Warnings and precautions for the users

The product / test is only suitable within the scope of its intended use.

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

The standards contain HT-2 toxin, particular care should be taken. Avoid contact of the reagent with the skin (use gloves).

Decontamination of the glassware and mycotoxin solutions is best carried out using a sodium hypochlorite (bleach) 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 safety data sheets (SDS) for this product, available online at [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

Do not reuse wells of the microtiter strips (coated microtiter plate). Use separate pipette tips for each standard and each sample extract to avoid cross contamination.

All reagents and materials must be recovered or disposed after use at customers own responsibility according to the protection of human health and the environment. Please observe the applicable national regulations concerning waste disposal (e.g. Waste Management Act, Regulations on Dangerous Chemicals, etc.).

## 7. Storage instructions

Store the kit at 2 - 8 °C (35 - 46 °F). Do not freeze any test kit components.

To avoid moisture inside the wells, open the foil bag for withdrawal of microwells only after having reached room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).

Return any unused microwells to their original foil bag, reseal them together with the desiccant provided and further store at 2 - 8 °C (35 - 46 °F).

HT-2 toxin is light sensitive; therefore, avoid exposure of standards to direct light.

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

Do not use the test kit after the expiration date (see test kit label).

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. Sample preparation

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

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

### 9.1. Oats

For preparation of oat samples, a special extraction buffer is needed. Please use the extraction buffer oats concentrate contained in the kit and dilute it 1:10 (e.g. 10 mL + 90 mL distilled water) to obtain ready-to-use extraction buffer oats. Ready-to-use extraction buffer oats should be stored at 2 - 8 °C (36 - 46 °F) and expires after approx. 8 - 10 weeks.

- Weigh out 5 g of ground sample and add 25 mL of ready-to-use extraction buffer oats \*)
- Shake the sample for 10 min (overhead)
- Centrifuge: 10 min / 3000 g / at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F)
- Dilute the supernatant 1:2 (1+1) with methanol/distilled water (70/30; v/v), (e. g. 1 mL supernatant + 1 ml of methanol/distilled water (70/30; v/v))
- Use 50 µL per well in the assay

\*) sample size may be increased if required, but the volume of ready-to use extraction buffer oats must be adapted accordingly, e.g.: 25 g in 125 mL ready-to-use extraction buffer oats or 50 g in 250 mL ready-to-use extraction buffer oats. Buffer contained in the kit will then be sufficient for a lower number of oat samples, respectively.

## 9.2. Grains (barley, corn, wheat)

- Weigh out 5 g of ground sample and dissolve with 25 mL of methanol/distilled water (70/30; v/v) for extraction \*)
- Shake the extract for 10 min (overhead)
- Centrifuge: 10 min / 3000 g / at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F)
- Dilute the supernatant 1:2 (1+1) with dest. water (e. g. 1 mL supernatant + 1 ml of dest. water)
- use 50 µL per well in the assay

\*) sample size may be increased if required, but the volume of methanol/distilled water (70/30; v/v) must be adapted accordingly, e.g.: 25 g in 125 mL methanol/distilled water (70/30; v/v) or 50 g in 250 mL methanol/distilled water (70/30; v/v).

### Remark:

**At high T-2 / HT-2 toxin concentrations (> 360 ppb) the 1:2 diluted extract solution must be further diluted (e.g. 1:10 (1+9) with methanol (35 %), means 50 µL of the diluted extract solution + 450 µL methanol (35 %)). The given example would result in an additional dilution factor of 10.**

## 10. Test implementation

### 10.1. Preliminary comments

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

A PBS-Tween buffer is needed as **wash buffer**; please use the wash buffer salt contained in the kit (see 4.). Dissolve the total content of the pouch in one liter of distilled water. The ready to use washing buffer expires after approx. 4 - 6 weeks, stored at 2 - 8 °C (36 - 46 °F).

Alternatively: Dissolve the contents of the pouch in 100 mL of distilled water to obtain a 10fold concentrated wash buffer. This 10fold concentrate expires after approx. 8 - 12 weeks, stored at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F). Use one part of this

concentrate and dissolve with 9 parts of distilled water to obtain the ready to use wash buffer.

Components should be stored immediately at 2 - 8 °C (35 - 46 °F) when no longer required.

## 10.2. Test procedure

Carefully follow the recommended washing procedure to obtain unambiguous results. Do not allow microwells to dry between work steps.

1. Insert a sufficient number of wells into the microwell holder for all standards and samples to be run in duplicate. Record standard and sample positions.
2. Add 50 µL of standard or prepared sample to separate duplicate wells; use a new pipette tip for each standard or sample.
3. Add 50 µL of conjugate to the bottom of each well.
4. Add 50 µL of antibody to each well. Mix gently by shaking the plate manually and incubate for 30 min at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).
5. Pour the liquid out of the wells and tap the microwell holder upside down vigorously (three times in a row) against absorbent paper to ensure complete removal of liquid from the wells. Fill all the wells with 250 µL wash buffer (see 10.1.) and pour out the liquid again. Repeat two more times.
6. Add 100 µL of substrate/chromogen to each well. Mix gently by shaking the plate manually and incubate for 15 min at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) in the dark.
7. Add 100 µL of the stop solution to each well. Mix gently by shaking the plate manually and measure the absorbance at 450 nm. Read within 30 min after addition of stop solution.

## 11. Evaluation

A special software, the **RIDASOFT® Win.NET Food & Feed (Art. No. Z9996FF)** is available for evaluation of the RIDASCREEN® enzyme immunoassays.

For the evaluation it should be clarified, that all quality criteria are fulfilled for the current test run. The course of the standard curve is shown in the certificate of analysis (CoA) enclosed in the test kit.

Remark for the calculation without software:

$$\frac{\text{absorbance standard (or sample)}}{\text{absorbance zero standard}} \times 100 = B/B_0 (\%)$$

The zero standard is thus equated 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 T-2 / HT-2 toxin concentration [ $\mu\text{g/L}$ ].

## 12. Result interpretation

In order to obtain the T-2 and HT-2 toxin concentration in  $\mu\text{g/kg}$  actually contained in a sample, the concentration read from the calibration curve must be further multiplied by the corresponding dilution factor. When working in accordance with the regulation stated, the dilution factors are as follows:

Oats, corn, barley, wheat.....10 (or 100\*)

\* see 9. sample preparation, remark

Therefore, the measurement range of the test is 10 to 360  $\mu\text{g/kg}$  (ppb) T-2 / HT-2 toxin for oats and grain (or in the range of 100 to 3600  $\mu\text{g/kg}$  (ppb)).

Results between LoD and LoQ may indicate a low T-2 / HT-2 concentration in the sample. Therefore, such results should not be reported with a quantitative value, but qualitative as “< LoQ”.

A result below the LoD does not exclude an T-2 / HT-2 contamination below the detection limit of the assay. The result should be reported accordingly.

A further dilution of samples is recommended for absorbance values ( $A_{450 \text{ nm}}$ ) > standard 6. In case of a further dilution, the additional dilution factor must be taken into account when calculating the T-2 / HT-2 concentration.

Compared to the certificate, higher absorbance values ( $A_{450\text{ nm}}$ ) for the standard curve, especially for the zero standard, may be a result of insufficient washing or T-2 / HT-2 contamination.

### 13. Limits of the method

Test results may vary depending on the sample matrix, the actual test procedure, and the laboratory environment.

Detection limits (LoD) and quantification limits (LoQ) depend on the respective sample matrix, the degree of processing, and the extraction method.

### 14. Recommendation

In order to ensure a high analytical performance we recommend to analyze each sample material in duplicates. Each laboratory may decide to perform the test in single determinations after a qualified risk management analysis. This has no influence on the function of the test kit. However, it should be noted that this increases the risk of overlooking errors in the performance of the test (e.g. pipetting errors). Moreover, a higher result variation will occur when pipetting in single determinations.

In order to ensure a high analytical performance we recommend:

- Pre-flush pipette tips with standard or sample extract prior to pipetting.
- Carry along test controls for quality control. Toxin free and toxin containing (spiked) samples should be used.
- In case of extremely acidic or basic samples, adjust the sample's pH value (pH 6.5 - 7.5) to neutral prior to extraction.
- To do spike experiments to ensure an accurate and correct test procedure. An example of a spiking experiment is given in the validation report.
- To contact [sales@r-biopharm.de](mailto:sales@r-biopharm.de) if automates (e.g. ThunderBolt® / Bolt™) are used.

## 15. Further Application notes

Further application notes are available on request.

For further product information and applications, please contact your local distributor or R-Biopharm at this address: [sales@r-biopharm.de](mailto:sales@r-biopharm.de).

### Version overview

Version number	Chapter and title
2015-09-09	Release version
2024-01-30	Current version General revision Changes made: <ul style="list-style-type: none"><li>– Brief information</li><li>– Equipment</li><li>– Chapter 12-15. are added</li></ul>

### Explanation of symbols

General symbols:

-  Follow the instructions for use
-  Batch number
-  Expiry date (YYYY-MM-DD)
-  Storage temperature
-  Article number
-  Number of test determinations
-  Manufacturing date (YYYY-MM-DD)
-  Manufacturer + address

## Disclaimer

The user assumes all risk in using R-Biopharm AG's products and services.

R-Biopharm AG will warrant that its products and services meet all quality control standards set by R-Biopharm AG, and R-Biopharm AG will, at its option, replace or repair any components, product or repeat services which prove to be defective in workmanship or material within product specific warranty periods or expiration dates and which our examination shall disclose to our satisfaction to be defective as such.

This warranty is expressly in lieu of all other warranties, expressed or implied, as to quality, description, fitness for any particular purpose, merchantability, productiveness, or any other matter. R-Biopharm AG shall be in no way responsible for the proper use of its products and hereby disclaims all other remedies, warranties, guarantees or liabilities, expressed or implied, arising by law or otherwise, and it shall have no liability for any lost profits or damage, direct, indirect or otherwise, to person or property, in connection with the use of any of its products or services.

This warranty shall not be extended, altered or varied except by a written instrument signed by an authorized representative of R-Biopharm AG.

### **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](mailto:info@r-biopharm.de)

[www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)

Vorsitzender des Aufsichtsrats /

Chairman of Supervisory Board:

Dr. Ralf M. Dreher

Vorstand / Board of Management:

Christian Dreher (Vorsitzender / Chairman),

Ute Salzbrenner, Dr. Frank Apostel,

Dr. Frank Vitzthum

Handelsregister / Commercial Register:

Amtsgericht Darmstadt HRB 8321