

r-biopharm®



RIDASCREEN®FAST DON SC

REF R5905

Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung
von Deoxynivalenol

Enzyme immunoassay for the quantitative determination
of deoxynivalenol

In vitro Test

Lagerung bei 2 - 8 °C
Storage at 2 - 8 °C (36 - 47 °F)



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, 64297 Darmstadt, Germany

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

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

Auftragsannahme

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

E-Mail: orders@r-biopharm.de

Marketing & Vertrieb

E-Mail: info@r-biopharm.de

R-Biopharm AG switchboard

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

Order department

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

E-mail: orders@r-biopharm.de

Marketing & sales

E-mail: sales@r-biopharm.de

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

R-Biopharm AG ist ISO 9001 zertifiziert.

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

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

Kurzinformation

RIDASCREEN®FAST DON SC (Art. Nr. R5905) ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Deoxynivalenol (DON) in Getreide, Malz und Futtermitteln (siehe Kapitel 1. Verwendungszweck).

Alle Reagenzien für die Durchführung des Enzymimmunoassays, inkl. Standards, sind im Testkit enthalten. Der Testkit ist ausreichend für maximal 48 Bestimmungen (einschließlich Standardbestimmungen).

Zur Auswertung benötigt man ein Mikrotiterplatten-Photometer.

Probenvorbereitung: Extrahieren und filtrieren

Zeitbedarf: Probenvorbereitung (für 10 Proben) ca. 10 min
Testdurchführung (Inkubationszeit)..... 8 min

Nachweisgrenze: 0,074 mg/kg (ppm)
(Matrix-abhängig)

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.

Weitere Produkte und Zubehör für den Nachweis von DON

RIDASCREEN® DON (R5906)

RIDASCREEN®FAST DON (R5901/R5902)

RIDA®QUICK DON RQS ECO (R5911)

TRILOGY® Dried Standards, Liquid Standards, Certified Reference Material und QC Material verfügbar (siehe Produktkatalog)

1. Verwendungszweck

RIDASCREEN®FAST DON SC (Art. Nr. R5905) ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von DON in Getreide, Malz und Futtermitteln.

2. Allgemeines

DON, ein Mykotoxin aus der Gruppe der Trichothecene, wird von Feldpilzen der Gattung *Fusarium* gebildet. DON ist in pflanzlichen Produkten, vor allem in Getreide, nachzuweisen. Von den mehr als 150 bekannten Trichothecenen ist in Europa und Nordamerika DON das vorherrschende Toxin, daneben sind noch 3-Acetyl- bzw. 15-Acetyldeoxynivalenol von Bedeutung. Die Toxingehalte insbesondere in Weizen, Mais oder Reis liegen häufig im ppm-Bereich und stellen aufgrund der hohen zytotoxischen und immunsuppressiven Wirkungen dieser Toxine ein Gesundheitsrisiko für Mensch und Tier dar.

3. Testprinzip

Grundlage ist die Antigen-Antikörper-Reaktion. Die Vertiefungen der Mikrotiterplatten sind mit Fängerantikörpern gegen anti-DON-Antikörper beschichtet. Zugegeben werden Null-Standard bzw. Probenlösungen sowie enzymmarkiertes DON (Enzymkonjugat) und anti-DON-Antikörper. Freies und enzymmarkiertes DON konkurrieren um die Antikörperbindungsstellen (kompetitiver Enzymimmunoassay). Gleichzeitig werden auch die anti-DON-Antikörper von den immobilisierten Fängerantikörpern gebunden. Nicht gebundenes enzymmarkiertes DON 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 des Stopp-Reagenzes führt zu einem Farbumschlag von blau nach gelb. Die Messung erfolgt photometrisch bei 450 nm; die Extinktion der Lösung ist umgekehrt proportional zur DON-Konzentration in der Probe.

4. Packungsinhalt

Mit den Reagenzien einer Packung können max. 48 Bestimmungen durchgeführt werden (einschließlich Standardbestimmungen). Jedes Testkit enthält:

Komponente	Deckelfarbe	Zustand	Inhalt
Microtiter plate M Mikrotiterplatte M	-	Gebrauchsfertig	48 Kavitäten
Standard 1* Standard 1	Weiß	Gebrauchsfertig	0 mg/l 1,3 ml
Wash buffer salt Tween Waschpuffer Tween	-	Salz zum Auflösen	-
Conjugate Konjugat	Rot	Gebrauchsfertig	3 ml
Antibody Antikörper	Schwarz	Gebrauchsfertig	3 ml
Substrate/Chromogen Substrat/Chromogen Red Chromogen Pro	Braun	Gebrauchsfertig	10 ml
Stop solution Stopp-Lösung	Gelb	Gebrauchsfertig	14 ml

* Nur Standard 1 (Nullstandard, 0 mg/l) ist im Testkit enthalten. Die B/B₀-Werte der chargenspezifischen Standardkurve sind auf dem im Testkit befindlichen Analysenzertifikat angegeben. Für die Berechnung der Ergebnisse siehe Kapitel 11. Auswertung.

5. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

5.1 Geräte

- Laborhandschuhe
- Waage (Messbereich mindestens bis zu 50 g, Genauigkeit von $\pm 0,01$ g)
- Getreidemühle, Schlagmühle, Mörser, Ultra-Turrax oder Homogenisator
- Messzylinder (Plastik oder Glas) 100 ml
- Filtertrichter und Auffanggefäß (50 ml)
- Filterpapier: Whatman No. 1 oder Vergleichbares
- (Horizontal)-Schüttler
- Variable 20 - 200 μ l und 200 - 1000 μ l Mikropipetten
- Multistepper- oder 8-Kanalpipette für 50, 100 und 250 μ l
- Mikrotiterplatten-Photometer (450 nm)

5.2 Reagenzien

- Destilliertes Wasser (dest. Wasser) 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 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).

Dieses 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.

Die Kavitäten der Mikrotiterstreifen (beschichtete Mikrotiterplatte aus dem Kit, siehe Kapitel 10.2. Testdurchführung) 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, Gefahrstoffverordnung 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.

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

Nach Ablauf des Verfallsdatums (siehe Testkit-Außenetikett unter Expiration) darf das Testkit nicht mehr verwendet werden.

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

8. Anzeichen für Reagenzienverfall

- Bläuliche Färbung des rötlichen Substrates/Chromogens vor Zugabe in die Kavitäten
- Extinktion kleiner 0,6 ($E_{450\text{ nm}} < 0,6$) für Standard 1 (Nullstandard)

9. Probenvorbereitung

Die Proben kühl und lichtgeschützt lagern.

Eine repräsentative Probe (eine unter offiziellen Probenahmeverfahren gezeichnete Probe) vor dem Extrahieren zerkleinern und mischen.

- 5 g der zerkleinerten Probe einwiegen und 100 ml destilliertes Wasser* hinzufügen
- Die Probe 2 min mit einem Ultra-Turrax (oder Vergleichbarem) homogenisieren oder 3 min kräftig schütteln (manuell oder mittels Schüttler)
- Den Extrakt durch einen Whatman No. 1 Papierfilter (oder vergleichbaren Filter) filtrieren
- 50 µl Filtrat pro Kavität im Test einsetzen

* Die Probeneinwaage kann entsprechend vergrößert werden, aber dazu muss das Volumen des Wassers angepasst werden z. B. 25 g in 500 ml dest. Wasser oder 50 g in 1000 ml dest. Wasser.

10. Testdurchführung

10.1 Testvorbereitungen

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

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.

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

Der DON Standard 1 (0 mg/l) liegt gebrauchsfertig vor. Die B/B₀-Werte der DON Standards 2 bis 8 (0,074, 0,222, 0,666, 1,333, 2, 4 und 6 mg/l) werden auf dem im Testkit befindlichen Analysenzertifikat angegeben. Die Standardkurve wird anhand dieser Werte mit der RIDASOFT® Win.NET berechnet (siehe Kapitel 11. Auswertung). Der Verdünnungsfaktor 20 für die Proben wurde in der Berechnung bereits berücksichtigt.

Als **Waschpuffer** wird ein PBS-Tween-Puffer benötigt. Benutzen Sie dazu bitte das beiliegende Puffersalz (siehe Kapitel 4. Packungsinhalt). Zur Herstellung des Puffers den gesamten Inhalt des Beutels in 1 Liter 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). Um die gebrauchsfertige Lösung herzustellen 1 Teil des 10fach Konzentrats mit 9 Teilen dest. Wasser mischen. Die Lösung (10fach Konzentrat) ist ca. 8 - 12 Wochen bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) haltbar.

10.2 Testdurchführung

Sorgfältiges Waschen ist sehr wichtig. Ein Eintrocknen der Kavitäten zwischen den Arbeitsschritten vermeiden. Daher sollte die Abarbeitung zügig erfolgen. Für die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse ist ein gleichmäßiges Waschen der Kavitäten erforderlich. Die beschriebenen Waschsequenzen deshalb immer einhalten.

Es wird empfohlen das Konjugat, den Antikörper, das Substrat/Chromogen und die Stopp-Lösung mit einer Multikanal- oder einer Multistepper-Pipette zu pipettieren, um eine Zeitverzögerung über die Platte zu vermeiden.

Bei allen Inkubationen direkte Sonneneinstrahlung vermeiden und die Mikrotiterplatte abdecken.

1. So viele Kavitäten in den Halterahmen einsetzen, wie für den Standard und die Proben benötigt werden. Die Position von Standard und Proben protokollieren.
2. 50 µl Standard oder vorbereitete Probe in die entsprechenden Kavitäten pipettieren. Für Standard oder Probe jeweils neue Pipettenspitzen benutzen.
3. Je 50 µl Konjugat in die entsprechenden Kavitäten pipettieren.
4. 50 µl der Antikörper in jede Kavität pipettieren. Vorsichtig durch leichte manuelle Bewegung der Platte mischen und 5 min (± 1) 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 Hilfe einer Waschflasche oder Multikanal-Pipette (250 µl pro Kavität) mit Waschpuffer (siehe Kapitel 10.1. Testvorbereitung) waschen, die Kavitäten leeren und die Restflüssigkeit entfernen. Diesen Waschvorgang noch zweimal wiederholen.

6. 100 µl rot gefärbtes Substrat/Chromogen in jede Kavität pipettieren. Vorsichtig manuell mischen und 3 min ($\pm 0,5$) bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) im Dunkeln inkubieren.
7. 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 optional eine speziell für die RIDASCREEN® Enzymimmunoassays entwickelte Software, die **RIDASOFT® Win.NET (Art. Nr. Z9996FF)**, erhältlich. Die Auswertung sollte mittels Logit-Log Funktion erfolgen.

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.

Zur Berechnung der Ergebnisse müssen die für Standard 1 (0 ppm) gemessene Absorption und die im Analysezertifikat angegebenen B/B₀-Werte für die Standards 2 bis 8 (0,074, 0,222, 0,666, 1,333, 2, 4, und 6 mg/l) in die RIDASOFT® Win.NET (Art. Nr. Z9996FF) eingegeben werden. Daraus errechnet das Programm die entsprechende Standardkurve und die resultierenden Gehalte an DON in den Proben.

12. Interpretation der Ergebnisse

Ergebnisse zwischen LOD und LOQ können auf einen geringen Gehalt des untersuchten Analyten in der Probe hinweisen. Ermittelte Werte in diesem Bereich sind aufgrund der hohen Schwankungsbreite des Tests aber mit einer hohen Unsicherheit versehen. Ergebnisse sollten deshalb nicht quantitativ als Wert, sondern qualitativ "< LOQ" angegeben werden.

Ein Ergebnis unterhalb der LOD schließt nicht aus, dass eine Mykotoxinkontamination unterhalb der Nachweisgrenze dieses Testes vorliegt. Die Interpretation des Ergebnisses sollte entsprechend formuliert werden.

Proben mit Extinktionswerten ($E_{450 \text{ nm}}$) > Standard 8 (siehe Kapitel 11. Auswertung) können weiter verdünnt und nochmals bestimmt werden. Bei einer weiteren Verdünnung muss der zusätzliche Verdünnungsfaktor bei der Berechnung des Ergebnisses berücksichtigt werden.

13. Grenzen der Methode

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

Nachweis- und Bestimmungsgrenzen sind abhängig von der jeweiligen Probenmatrix, dem Grad der Prozessierung und dem Extraktionsverfahren.

Eine falsche Einwaage der zu untersuchenden Probe hat Einfluss auf das Messergebnis.

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 vorzuspülen.
- Zur Qualitätskontrolle Testkontrollen mitzuführen. Hierfür sind Mykotoxin-freie und Mykotoxin-haltige Proben zu verwenden.









Für weitere Produktinformationen und Applikationen kontaktieren Sie bitte info@r-biopharm.de.

Versionsübersicht

Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2016-09-28	Freigabeversion
2023-09-27	Aktuelle Version Generelle Überarbeitung, weitere Änderungen: <ul style="list-style-type: none">– Entfernung des FGIS (2014-052) Zertifikats– Änderungen in Kapitel 5 + 6 + 7 + 11– Neue Kapitel 12 + 13 + 14 + Versionsübersicht + Symbolerklärung + neuer Disclaimer

Symbolerklärung

Allgemeine Symbole:

	Gebrauchsanweisung beachten
	Chargennummer
	Verfallsdatum (YYYY-MM)
	Lagertemperatur
	Artikelnummer
	Anzahl Testbestimmungen
	Herstelldatum (YYYY-MM)
	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®FAST DON SC

Brief information

RIDASCREEN®FAST DON SC (Art. No. R5905) is a competitive enzyme immunoassay for the quantitative determination of deoxynivalenol (DON) in cereals, malt and feed (see chapter 1. Intended use).

All reagents required for the enzyme immunoassay, including standards, are contained in the test kit. The test kit is sufficient for a maximum of 48 determinations (including standards).

A microtiter plate spectrophotometer is required for quantification.

Sample preparation: Extraction and filtration

Time requirement: Sample preparation (for 10 samples) .. approx. 10 min
 Test implementation (incubation time)..... 8 min

Limit of detection: 0.074 mg/kg (ppm)
(depending on matrix)

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/>.

Related product and accessories for DON determination

RIDASCREEN® DON (R5906)

RIDASCREEN®FAST DON (R5901/R5902)

RIDA®QUICK DON RQS ECO (R5911)

TRILOGY® dried standards, liquid standards, certified reference material and QC material available (see product catalogue)

1. Intended use

RIDASCREEN®FAST DON SC is a competitive enzyme immunoassay for the quantitative determination of DON in cereals, malt and feed.

2. General information

DON belongs to the trichothecene group of mycotoxins and is formed by fungi of the genus *Fusarium*. DON often occurs in plant products particularly in cereals. Of the trichothecene mycotoxins DON, 3-acetyl- and 15-acetyl-deoxynivalenol are the most frequently occurring toxins in Europe and Northern America. The toxin concentrations found in wheat, corn or rice are often in the ppm range. Due to their high cytotoxic and immunosuppressive properties these toxins pose a risk to 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-DON antibodies. DON standards or sample solutions, DON enzyme conjugate and anti-DON antibodies are added. Free DON and DON enzyme conjugate compete for the DON antibody binding sites (competitive enzyme immunoassay). At the same time, the anti-DON 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 DON concentration in the sample.

4. Reagents provided

Each kit contains sufficient materials for a maximum of 48 measurements (including standard analyses). Each test kit contains:

Component	Cap color	Format	Volume
Microtiter plate M	-	Ready to use	48 wells
Standard 1*	white	Ready to use	0 mg/L 1.3 mL
Wash buffer salt Tween	-	Dissolve the salt	-
Conjugate	red	Ready to use	3 mL
Antibody	black	Ready to use	3 mL
Substrate/Chromogen Red Chromogen Pro	brown	Ready to use	10 mL
Stop solution	yellow	Ready to use	14 mL

* Only standard 1 (zero standard, 0 mg/L) is included in the test kit. The standard curve (B/B_0) is provided with the certificate of analysis (CoA) of the test kit. For the calculation of results see chapter 11. Evaluation.

5. Reagents required but not provided

5.1 Equipment

- Gloves
- Scale (measurement range at least up to 50 g and precision of ± 0.01 g)
- Grinder (mill), laboratory mincer / grinder, mortar, ultra-turrax or homogenizer
- Graduated cylinder: (plastic or glass) 100 mL
- Filter paper: Whatman No. 1 or equivalent
- (Horizontal) shaker
- Variable 20 - 200 μ L and 200 - 1000 μ L micropipettes
- Multi stepper or 8-channel pipette for 50, 100 and 250 μ L
- Microtiter plate spectrophotometer (450 nm)

5.2 Reagents

- Distilled water (dist. water) 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 instruction for use must be strictly followed.

Decontamination of the glassware and toxin 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 material safety data sheets (SDS) for this product, available online at www.r-biopharm.com.

Do not reuse wells of the microtiter strips (coated microtiter plate, see chapter 10.2 Test procedure). 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).

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

- Bluish coloration of the reddish substrate/chromogen prior to test implementation
- Value of less than 0.6 absorbance units ($A_{450\text{ nm}} < 0.6$) for standard 1 (zero standard)

9. Sample preparation

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

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 into a suitable container and add 100 mL of distilled water*
- Blend the sample by ultra-turrax (or equivalent) for two minutes or shake vigorously for three minutes (manually or with shaker)
- Filter the extract through Whatman No. 1 filter paper (or equivalent)
- Use 50 µL of the filtrate per well in the test

* Sample size may be increased if required, but the volume of water must be adapted accordingly, e.g. 25 g in 500 mL of distilled water or 50 g in 1000 mL of distilled water.

10. Test procedure

10.1 Test preparation

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

The specific reaction starts with the addition of the specific antibody. Not more than three strips should be applied to the test, when a single step pipette is used. More strips (up to 6) can be applied, when a multistep pipette is used.

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

The **DON standard 1** (zero standard, 0 mg/L) is provided ready to use. B/B₀-values of DON standards 2 to 8 (0.074, 0.222, 0.666, 1.333, 2, 4, and 6 mg/L) are reported on the certificate of analysis (CoA) of the test. The standard curve is calculated with the RIDASOFT® Win.NET (see chapter 11. Evaluation) according to those values. The dilution factor 20 for the sample has been considered in this calculation.

As **wash buffer** a PBS tween buffer is needed. Please use the wash buffer salt contained in the kit (see chapter 4. Reagents provided). Dissolve the entire buffer salt in one liter of distilled water. The ready to use washing buffer expires after approx. 4 - 6 weeks at 2 - 8 °C (36 - 46 °F).

Alternative: Dissolve the contents of the pouch in 100 mL of distilled water to obtain a 10fold concentrated washing buffer. Use 1 part of this concentrate and dilute with 9 parts of distilled water to obtain the ready to use washing buffer. The 10fold concentrate expires after approx. 8 - 12 weeks, store at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).

10.2 Test procedure

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

It is recommended to pipette the conjugate, the antibody, the substrate/chromogen and the stop solution with a multi-channel or stepper pipette to avoid a time shift over the plate.

Avoid direct sunlight during all incubations. Therefore cover the microtiter plates.

1. Insert a sufficient number of wells into the microwell holder for the standard and samples to be run. Record standard and sample positions.
2. Pipet 50 µL of standard or prepared sample into separate wells. Use a new pipette tip for the standard or each 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 5 min (± 1) at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).
5. 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 (250 µL per well) with wash buffer (see chapter 10.1. Test preparation). Empty the wells again and remove all remaining liquid. Repeat the washing step two more times.
6. Add 100 µL of substrate/chromogen to each well. Mix gently by shaking the plate manually and incubate for 3 min (± 0.5) at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) in the dark.
7. Add 100 µL 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. Evaluation

Special software, **RIDASOFT® Win.NET (Art. No. Z9996FF)**, is optional available for evaluation of the RIDASCREEN® enzyme immunoassays. The evaluation should be done using logit-log function.

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.

For calculation of results you need to transfer the measured absorbance for standard 1 (0 ppm) as well as the B/B₀ values for standards 2 to 8 (0.074, 0.222, 0.666, 1.333, 2, 4, and 6 ppm) provided with the kit certificate, into the RIDASOFT® Win.NET. From this the software program calculates the standard curve and the content of DON in the samples.

12. Result interpretation

Results between LOD and LOQ indicate a low mycotoxin concentration in the sample. Calculated result show a high uncertainty in this area due to the method's high variation below LOQ. Therefore, such results should not be reported with a quantitative value, but qualitative as "< LOQ".

A result below the LOD does not exclude a mycotoxin contamination below the detection limit of the assay. The result should be reported accordingly.

A further dilution and new detection of samples is recommended for absorbance values ($A_{450\text{ nm}}$) > standard 8 (see chapter 11. Evaluation). In case of a further dilution, the additional dilution factor must be taken into account when calculating the mycotoxin concentration.

13. Limits of the method

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

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

An incorrect weight of the sample to be analyzed will have a 1:1 effect on the measurement result.

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 prior to pipetting.
- Carry along test controls for quality control. Mycotoxin-free and mycotoxin containing samples should be used.









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

Version overview

Version number	Chapter and title
2016-09-28	Release version
2023-09-27	Current version General revision, changes made: <ul style="list-style-type: none">– Removal of FGIS (2014-052) certificate– Changes in chapter 5 + 6 + 7 + 11– New chapter 12 + 13 + 14 + version overview + explanation of symbols + new disclaimer

Explanation of symbols

General symbols:

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

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