RIDASCREEN® Risk Material

REF R6701

Enzymimmunoassay zur Bestimmung
von Risikomaterial (ZNS) in prozessierten (erhitzten) Fleisch- und Wurstwaren.

Enzyme immunoassay for the detection
of risk materials (CNS) in processed (heated) meat and sausages.

In vitro Test

Lagerung bei 2 - 8 °C
Store between 2°C to 8°C (36°F to 46°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:

If you have any further questions, please feel free to contact us:

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 Main Contact
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.

© 2025 R-Biopharm AG

Kurzinformation

RIDASCREEN® Risk Material (Art. Nr.: R6701) ist ein Sandwich-Enzymimmunoassay zur Bestimmung von spezifiziertem Risikomaterial im Sinne von Anhang der Verordnung EG VO Nr. 999/2001 zur Verhütung, Kontrolle und Tilgung bestimmter transmissibler spongiformer Enzephalopathien (u.a. Hirn, Rückenmark, Augen und Tonsillen - nachfolgend “ZNS”) in prozessierten (erhitzten) Fleisch- und Wurstwaren. Für die Untersuchung von rohem Fleisch sowie von kontaminierten Oberflächen wird der RIDASCREEN® Risk Material 10/5 (Art. Nr.: R6703) empfohlen.

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

Probenvorbereitung:	homogenisieren, extrahieren, zentrifugieren und verdünnen
Zeitbedarf:	Probenvorbereitung (für 10 Proben) ca. 1 h Testdurchführung (Inkubationszeit) 1 h
Nachweisgrenze:	≤ 0,2 % für ZNS-Gewebe* in prozessierten (erhitzten) Fleisch- und Wurstwaren matrixabhängig
Bestimmungsgrenze:	0,2 % für ZNS-Gewebe* in prozessierten (erhitzten) Fleisch- und Wurstwaren matrixabhängig
Spezifität:	Mit dem RIDASCREEN® Risk Material-Test wird ZNS-Gewebe von Rind, Kalb, Schaf, Ziege, Pferd, Geflügel und Schwein nachgewiesen. Eine Aussage über die Gewebeart (Hirn, Rückenmark oder Auge) ist nicht möglich.

*Der Test ist auf ZNS-Gewebe von Rind (Hirn) eingestellt (s. Ziff. 13)

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 ZNS-Gewebe

RIDASCREEN® Risk Material 10/5 R6703
Abstrichtupfer (Swab) und Probenröhrchen Z0010

1. Verwendungszweck

RIDASCREEN® Risk Material-Test ist ein Sandwich-Enzymimmunoassay zur Bestimmung von Risikomaterial (ZNS) in prozessierten (erhitzten) Fleisch- und Wurstwaren.

2. Allgemeines

BSE (Bovine Spongiforme Enzephalopathie) wurde 1986 zuerst in Großbritannien diagnostiziert. Der Infektionsmechanismus ist bisher nicht genau geklärt, aber es ist unbestritten, dass das krankhaft veränderte Prion Protein (PrPsc) eine große Rolle bei der Übertragung und Entwicklung dieser Gehirnerkrankung spielt.
Das Verfüttern von unzureichend erhitztem Tiermehl führte zu einer Ausbreitung dieser Erkrankung, infolge derer bis Ende 2000 über 180.000 Tiere getötet wurden. Durch die Applikation von infektiösem Gehirnmaterial konnte eine Infektion bei verschiedenen Tierarten induziert werden. Ähnliche Krankheitsbilder werden bei Schafen, Ziegen, Katzen und anderen Säugetieren beschrieben. Mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit wird die neue Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJK) durch die Aufnahme von infektiösem Fleisch und Fleischprodukten ausgelöst. Die Mortalität dieser Erkrankung, an der bis Mai 2002 in Großbritannien 111 Menschen verstorben sind, beträgt 100%. Als Schutzmaßnahme wurde das Verfüttern von Tiermehl (2000/766/EG) und das Verarbeiten von spezifischem Risikomaterial in Lebensmitteln (2000/418/EG) / (2001/999/EG) von der EU verboten.

3. Testprinzip

Grundlage ist die Antigen-Antikörper-Reaktion. Der Nachweis von Risikomaterial erfolgt über die Bestimmung von saurem Gliafaserprotein (GFAP), einem zellulären Marker, der in besonders hoher Konzentration im ZNS vorkommt. Die Vertiefungen der Mikrotiterstreifen sind mit spezifischen Antikörpern gegen GFAP beschichtet. Im Falle des Vorhandenseins von ZNS-Gewebe bindet darin enthaltenes Gliafaserprotein an den spezifischen Fänger-Antikörper. Mit einem Peroxidase-gekoppelten Antikörper gegen GFAP (Enzymkonjugat) wird gebundenes Antigen nachgewiesen. Nicht gebundenes Enzymkonjugat wird anschließend in einem Waschschritt 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 proportional zur Risikomaterial-Konzentration in der Probe.

4. Packungsinhalt

Mit den Reagenzien einer Packung können max. 96 Bestimmungen durchgeführt werden (incl. Standardbestimmungen). Jeder Testkit enthält:

Komponente	Deckelfarbe	Zustand		Inhalt
Microtiter plate Mikrotiterplatte	-	Gebrauchsfertig		96 Kavitäten
Sample buffer Probenpuffer	Weiß	**Konzentrat**	**10-fach**	10 ml
Extraktionspuffer Extraktionbuffer	Weiß	**Konzentrat**	**10-fach**	100 ml
Standard 1* Standard 1	Weiß	Gebrauchsfertig	0 %	1,3 ml
Standard 2* Standard 2	Weiß	Gebrauchsfertig	0,2 %	1,3 ml
Standard 3* Standard 3	Weiß	Gebrauchsfertig	1,0 %	1,3 ml
Standard 4* Standard 4	Weiß	Gebrauchsfertig	2,0 %	1,3 ml
Wash buffer salt Tween Waschpuffersalz Tween	-	**Salz zum Auflösen**	-	-
Conjugate Konjugat	Rot	Gebrauchsfertig	-	6 ml
Substrate/Chromogen Substrat/Chromogen Red Chromogen	Braun	Gebrauchsfertig	-	10 ml
Stop Solution Stopp-Lösung	Gelb	Gebrauchsfertig	-	14 ml

***) Die Konzentrationsangaben berücksichtigen bereits den Verdünnungsfaktor, der sich aus der Probenvorbereitung ergibt. So können die ZNS-Gewebe-Konzentrationen (%) der Proben direkt aus der Standardkurve abgelesen werden.**

5. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

5.1. Geräte:

- Variable 20 - 200 µl und 200 - 1000 µl Mikropipetten
- Mikrotiterplatten-Photometer (450 nm)
- Laborhandschuhe
- Ggf. Waage (Messbereich mindestens bis zu 2 g, Genauigkeit von ± 0,01 g)
- Schlagmühle, Mörser, Ultra-Turrax oder Homogenisator
- Messzylinder (Kunststoff oder Glas) 25 ml
- Zentrifuge (mind. 3.500 x g) + zentrifugierbare Reagenzröhrchen mit Verschluss
- Wasserbad (100 ° C)

- Vortexer
- Gegebenenfalls: Multistepper oder 8-Kanalpipette für 50 µl, 100 µl und 250 µl
- Optional: RIDA®ABSORBANCE 96 (Art. Nr. ZRA96FF)
- Optional: RIDASOFT® Win.NET Food & Feed (Art. Nr. Z9996FF)

5.2. Reagenzien:

- Destilliertes Wasser (dest. Wasser) oder deionisiertes Wasser

6. Vorsichtsmaßnahmen

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.

Dieses Kit kann gesundheitsgefährdende Substanzen enthalten. Sicherheitshinweise zu den enthaltenen Komponenten entnehmen Sie bitte den Sicherheitsdatenblättern (SDS) zu diesem Produkt auf unserer Internetseite: **https://food.r-biopharm.com/de/produkte/ridascreen-risk-material/**

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.

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 zulässig.

8. Anzeichen für Reagenzienverfall

- bläuliche Färbung der rötlich gefärbten Substrat-/Chromogenlösung vor Zugabe in die Kavitäten
- Extinktion kleiner 0,6 ($E_{450\ nm} < 0{,}6$) für den Standard 4 (2,0 %)

9. Probenvorbereitung

Die Proben kühl lagern.

Alle Reagenzien und Proben vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) bringen und die Probenvorbereitung bei Raumtemperatur durchführen.

9.1. Vorbereitung der Komponenten

Der **Probenpuffer** liegt als 10fach Konzentrat vor und muss deshalb vor Gebrauch 1:10 (1+9) mit destilliertem Wasser verdünnt werden. Eventuell im Konzentrat vorhandene Kristalle sind vorher durch Erwärmen im Wasserbad bei 37 °C zu lösen. Wir empfehlen, den Probenpuffer in einem Schritt zu verdünnen (d.h. 10 ml Puffer-Konzentrat + 90 ml destilliertes Wasser).

Der verdünnte Probenpuffer kann bei 2 - 8 °C bis zum Verfallsdatum auf dem Pufferetikett aufbewahrt werden.

Der **Extraktionspuffer** liegt als 10fach Konzentrat vor und muss deshalb vor Gebrauch 1:10 (1+9) mit destilliertem Wasser verdünnt werden. Eventuell im Konzentrat vorhandene Kristalle vorher durch Erwärmen im Wasserbad bei 37 °C lösen. Wir empfehlen, den Extraktionspuffer in einem Schritt zu verdünnen (d.h. 100 ml Pufferkonzentrat + 900 ml destilliertes Wasser).
Der verdünnte Extraktionspuffer kann bis zum angegebenen Verfallsdatum auf dem Pufferetikett aufbewahrt werden. Um ein erneutes Auskristallisieren zu vermeiden, kann der Extraktionspuffer auch bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) gelagert werden.

9.2. Fleisch- und Wurstproben

Die Probenaufbereitung spielt eine wesentliche Rolle für die GFAP-Freisetzung und sollte daher besonders sorgfältig durchgeführt werden. Eine mögliche Kontamination mit ZNS-Material kann sehr ungleich in der Probe verteilt sein. Die Verteilung kann zu unterschiedlichen Testergebnissen führen. Daher ist darauf zu achten, dass vor der Analyse eine gründliche Vermischung erfolgt.

- 2 g Homogenat in ein Zentrifugenglas einwiegen, mit 10 ml verdünntem Extraktionspuffer (siehe 9.1.) versetzen und durch kräftiges Schütteln (Vortex) suspendieren
- 15 min bei 100 °C aufkochen
- Proben abkühlen und zentrifugieren: 10 min / 3500 g / 10 °C
- die obere Fettschicht vollständig entfernen (absaugen, z.B. mit einer Pasteurpipette)
- den fettfreien Überstand 1:20 (1+19) mit verdünntem Probenpuffer (siehe 9.1.) verdünnen (z.B. 50 µl Überstand + 950 µl verdünnter Puffer)
- pro Kavität 50 µl im Test einsetzen

Lagerung der Proben: Die in Probenpuffer verdünnten Extraktionsüberstände können bei 2 - 8 °C ca. 8 Wochen gelagert werden. Vor Einsatz im Test sollten die Proben auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) gebracht und noch einmal kurz aufgeschüttelt werden.

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 Waschpuffer-Salz (siehe 4.). Zur Herstellung des Puffers den gesamten Inhalt des Beutels in 1 l destilliertem Wasser lösen. Der gelöste Waschpuffer ca. 4 - 6 Wochen ist bei 2 - 8 °C haltbar.

Alternativ: Inhalt des Beutels in 100 ml dest. Wasser lösen (10fach Konzentrat). Die 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

Konsequentes und gründliches Waschen ist entscheidend für zuverlässige Testergebnisse. Ein Eintrocknen der Kavitäten zwischen den Arbeitsschritten vermeiden.

Für die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse ist ein gleichmäßiges Waschen der Kavitäten erforderlich. Die beschriebenen Waschsequenzen deshalb immer einhalten.

Das Konjugat, das Substrat/Chromogen und die Stopp-Lösung müssen mit einer Multikanal- oder einer Multistepper-Pipette pipettiert werden, 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 alle Standards und Proben benötigt werden. Die Positionen der Standards und der Proben protokollieren.
2. Je 50 µl der Standardlösung bzw. der vorbereiteten Proben in die entsprechenden Kavitäten pipettieren.
3. Je 50 µl des Konjugates (roter Verschluss) in die entsprechenden Kavitäten pipettieren, vorsichtig manuell mischen und 30 min bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubieren.

4. Die Kavitäten durch Ausschlagen der Flüssigkeit leeren und die Restflüssigkeit durch kräftiges Ausklopfen (dreimal hintereinander) auf saugfähigen Labortüchern entfernen. Die Kavitäten mit jeweils 250 µl Waschpuffer (siehe 10.1.) waschen. Diesen Vorgang zweimal wiederholen (insgesamt drei Waschzyklen).
5. Je 100 µl Substrat-/Chromogenlösung (brauner Verschluss) in die Kavitäten pipettieren und 30 min bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) im Dunkeln inkubieren.
6. Je 100 µl Stopp-Reagenz (gelber Verschluss) in jede Kavität pipettieren und vorsichtig manuell mischen. Die Extinktion bei 450 nm innerhalb von 30 min nach Zugabe des Stopp-Reagenzes messen.

11. Auswertung

Die Farbintensität der ausgewählten Standards dient als Referenz.

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. Die Auswertung sollte mittels 4-Parameter erfolgen.

Für die Auswertung ist abzuklären, dass für den aktuellen Testlauf alle Qualitätskriterien aus dem Analysenzertifikat erfüllt sind. Der Verlauf der Standardkurve kann dem Analysenzertifikat entnommen werden.

12. Interpretation der Ergebnisse

Ein Ergebnis unterhalb der Nachweisgrenze schließt nicht aus, dass eine ZNS-Gewebe-Kontamination unterhalb der Nachweisgrenze dieses Tests vorliegt. Die Interpretation des Ergebnisses sollte entsprechend < Nachweisgrenze (%) formuliert werden.

13. Grenzen der Methode

Die Angaben dieser Gebrauchsanweisung (insbesondere Probenvorbereitung, Testdurchführung und Lagerungshinweise) müssen befolgt werden, um die angegebene Nachweisgrenze zu messen.

Testergebnisse, Nachweis- und Bestimmungsgrenzen sind abhängig von der Probenmatrix, den Laborbedingungen, dem Grad der Prozessierung und dem Extraktionsverfahren.

Der Test weist ZNS-Gewebe über das Markerprotein saures Gliafaserprotein (GFAP) nach.

Bei der Interpretation der Ergebnisse ist zu berücksichtigen, dass der Test auf ZNS-Gewebe von Rind (Hirn) eingestellt ist. Der Gehalt an Markerproteinen kann bei anderen Spezies abweichen. Weiterhin kann sich der Gehalt an Markerproteinen im gleichen Gewebe sowie in verschiedenen Geweben von Risikomaterial (Hirn, Rückenmark, Auge) auch bei Tieren derselben Spezies signifikant unterscheiden.

Bei der Interpretation der Ergebnisse ist daher zu berücksichtigen, dass unterschiedliche Konzentrationen von Risikomaterial zu positiven Ergebnissen führen kann.

14. Empfehlung

Um eine hohe analytische Sicherheit zu gewährleisten, wird empfohlen:
- Pipettenspitzen vor dem Pipettieren jeweils mit Standard oder Probenextrakt vorzuspülen.
- Zur Qualitätskontrolle regelmäßige Testkontrollen mitzuführen.

15. Weitere Applikationen

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

Versionsübersicht

Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2010-07-01	Freigabeversion
2025-11-21	Aktuelle Version Vorgenommene Änderungen: – Generelle sprachliche und formelle Überarbeitung – Ergänzung/Korrektur weiterer Produkte für den Nachweis von ZNS-Gewebe

Symbolerklärung

Allgemeine Symbole:

 Gebrauchsanweisung beachten



Chargennummer

 Verfallsdatum (YYYY-MM-DD)

 Lagertemperatur



Artikelnummer

 Anzahl Testbestimmungen

 Herstelldatum (YYYY-MM-DD)

 Hersteller + Adresse

– **Haftungsausschluss**

1. R-Biopharm AG leistet für Sach- und Rechtsmängel über einen Zeitraum von 12 Monaten (bzw. im Falle von Produkten, die eine kürzere Haltbarkeit haben, bis zum Ablauf des Haltbarkeitsdatums oder bei limitierter Verwendung bis zum Erreichen der Anzahl der Verwendungen) Gewähr, gerechnet vom Tag des Gefahrübergangs, vorbehaltlich einer frist- und formgerechten Rüge durch den Kunden, wobei die vereinbarte Beschaffenheit und Eignung für die vertraglich vorausgesetzte Verwendung und Übergabe mit vereinbartem Zubehör und vereinbarten Anleitungen („subjektiven Anforderungen“) entscheiden, ob eine Sache mangelhaft ist.
2. Die R-Biopharm AG übernimmt keine Gewährleistung für Folgen aus der Versäumnis
A) Die Gebrauchs- oder Sicherheitsanweisungen eines Produktes zu lesen, zu verstehen oder zu befolgen;
B) geschultes und qualifiziertes Personal für das Produkt einzusetzen;
c) geeignete Industriestandards- und Praktiken anzuwenden, insbesondere Good Laboratory Practices;
d) für das Produkt geeignete Kontroll-/Proben-/Probenmatrices oder Abarbeitungsverfahren/Prozesse einzusetzen;
e) sonstige fehlerhafte Benutzung;
f) Veränderung oder Bearbeitungen der Produkte
g) unsachgemäße Lagerung durch den Kunden oder Dritte
h) Folgen aus chemischer, elektromagnetischer, mechanisch oder elektrolytischer Einflüsse außerhalb der von R-Biopharm AG dokumentierten Standardbereiche
i) Schäden und Störungen, die durch von R-Biopharm nicht zu vertretende äußere Einwirkungen entstanden sind (z.B. Einbruch, Diebstahl, Blitzschlag, Feuer, Wasser, höhere Gewalt)
3. R-Biopharm AG haftet für Arglist, grobe Fahrlässigkeit oder Vorsatz der R-Biopharm A,G Verletzung von Leib, Leben oder Gesundheit, der Übernahme einer Garantie, eines Beschaffungsrisikos nach § 276 BGB oder einer Haftung nach einem anderen gesetzlich zwingenden Haftungstatbestand Die Haftung der R-Biopharm AG für die leicht fahrlässige Verletzung wesentlicher Vertragspflichten (Pflichten, die für die Erreichung des Vertragszwecks wesentlich sind und auf deren Einhaltung der Vertragspartner regelmäßig vertrauen darf) ist auf den vertragstypisch vorhersehbaren Schaden begrenzt; die Haftung der R-Biopharm AG für die leicht fahrlässige Verletzung anderer Pflichtverletzungen ist ausgeschlossen.
ALLE ANDEREN AUSDRÜCKLICHEN ODER STILLSCHWEIGENDEN GEWÄHRLEISTUNGEN ODER GARANTIEN JEGLICHER ART SIND AUSGESCHLOSSEN, UNABHÄNGIG DAVON, OB SIE DURCH GEWOHNHEITEN, PRAXIS, DEN GESCHÄFTSVERLAUF ZWISCHEN DEN PARTEIEN ODER ANDERWEITIG STILLSCHWEIGEND VORAUSGESETZT WERDEN.
Die Biopharm AG übernimmt keine Haftung für Folgeschäden, insbesondere entgangenen Gewinn., Produktionsrückstände oder sonstige mittelbare Schäden.

RIDASCREEN® Risk Material

Brief Overview

RIDASCREEN® Risk Material (Art. No.: R6701) is a sandwich enzyme immunoassay for the detection of specified risk materials in processed (heated) meat and sausages, as defined in Annex V of Regulation (EC) No. 999/2001, for the prevention, control, and eradication of certain transmissible spongiform encephalopathies (see Chapter 1: Intended Use). These include central nervous system (CNS) tissues - such as brain, spinal cord, eyes, and tonsils (hereinafter referred to as “CNS”). For detection of CNS in or on raw meat and sausage products, as well as on contaminated surfaces, RIDASCREEN® Risk Material 10/5 (Art. No.: R6703) is recommended.
All reagents required for the enzyme immunoassay - including standards - are contained in the test kit.
The test kit is sufficient for 96 determinations (including standards).
A microtiter plate spectrophotometer is required for quantification.

Sample preparation:	homogenization, extraction, centrifugation and dilution
Time requirement:	sample preparation (10 samples) approx. 1 h test implementation (incubation time) 1 h
Limit of Detection (LoD):	≤ 0.2 % for CNS tissue* in processed (heated) meat and sausages (Matrix-dependent)
Limit of Quantification (LoQ):	0.2 % for CNS tissue* in processed (heated) meat and sausages (Matrix-dependent)
Specificity:	The RIDASCREEN® Risk material test allows detection of CNS tissue from cattle (incl calves), sheep, goat, horse, poultry and pig. The test does not allow identification of tissue type (e.g. brain, spinal cord or ocular).

*The test is calibrated specifically to bovine CNS (brain) tissue

We additionally refer you to our ELISA Manual to enhance the quality of your ELISA testing process. It outlines minimum standards regarding conditions to be observed when using and performing ELISA analysis with R-Biopharm AG tests. The manual can be accessed, printed and downloaded at:
https://food.r-biopharm.com/media/technical-guides/.

Additional products and accessories for CNS tissue detection

RIDASCREEN® Risk Material 10/5 R6703
Swabs and sample tubes Z00101

1.Intended use

RIDASCREEN® Risk Material is a sandwich enzyme immunoassay for the detection of risk material (CNS) in processed (heated) meat and sausages.

2. General information

BSE (bovine spongiform encephalopathy) was first diagnosed in the United Kingdom in 1986. The mechanism of infection is not yet fully understood. However, it is undisputed that the pathologically altered prion protein (prPsc) plays a major role in the transmission and development of this neurodegenerative disease.
Feeding inadequately heat-treated meat-and-bone meal likely led to the spread of the disease, resulting in the culling of over 180,000 animals by the end of 2000. Experimental infection using infectious brain material successfully induced disease in various animal species. Similar disease patterns have been described in sheep, goats, cats, and other mammals.
It is considered highly likely that the new variant of Creutzfeldt-Jakob Disease (vCJD) is caused by the consumption of infectious meat and meat products. The mortality rate of this disease, which had claimed 111 lives in the UK by May of 2002, is 100%. As a protective measure, the European Union banned the feed of meat-and-bone meal (2000/766/EC) and the processing of specified risk material in food (2000/418/EC and 2001/999/EC).

3. Test principle

The assay is based on the antigen-antibody reaction. Detection of specified risk material is achieved through the quantification of Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP), a cellular marker found in particular high concentrations in CNS tissue. The wells of the microtiter strips are coated with specific antibodies against GFAP. If CNS tissue is present, the glial fibrillary acidic protein contained then binds to the specific capture antibodies. A peroxidase-conjugated antibody against GFAP (enzyme conjugate) is then used to detect the bound antigen. Unbound enzyme conjugate is removed in a subsequent washing step. Detection is carried out by adding substrate/chromogen. The bound enzyme conjugate converts the chromogen into a blue end product. The addition of the stop reagent causes a color change from blue to yellow. It is measured photometrically at 450nm. The absorbance of the solution is proportional to the concentration of specified risk material in the sample.

4. Package (Kit) Content

Each Kit contains sufficient reagents for max. 96 measurements (including standard analyses). Each package contains:

Component	Cap color	Format		Volume
Microtiter plate	-	Ready to use		96 Cavities
Sample buffer	White	**Concentrate**	**10 x**	10 mL
Extraction buffer	White	**Concentrate**	**10 x**	100 mL
Standard 1*	White	Ready to use	0 %	1.3 mL
Standard 2*	White	Ready to use	0.2 %	1.3 mL
Standard 3*	White	Ready to use	1.0 %	1.3 mL
Standard 4*	White	Ready to use	2.0 %	1.3 mL
Wash buffer salt Tween	-	**Salt for dissolution**	-	-
Conjugate	Red	Ready to use	-	6 mL
Substrate/Chromogen	Brown	Ready to use	-	10 mL
Stop solution	Yellow	Ready to use	-	14 mL

*) The concentration values already account for the dilution factor resulting from sample preparation. This allows the CNS tissue concentrations (%) of the samples to be read directly from the standard curve.

5. Materials required but not provided

5.1. Equipment:

- microtiter plate spectrophotometer (450 nm)
- centrifuge + centrifugal glass vials
- Impact mill, mortar, ultra-turrax or homogenizer
- water bath 100 °C (212 °F)
- graduated pipettes
- variable 20 µL - 200 µL and 200 - 1000 µL micropipettes
- Laboratory gloves
- If necessary, a scale (measuring range at least up to 2 g, accuracy of ± 0.01 g)
- Graduated cylinder (plastic or glass) 25mL
- Vortexer If necessary, Multistepper or 8-channel pipette for 50 µL, 100 µL and 250 µL
- Optional: RIDA®ABSORBANCE 96 (Art. Nr. ZRA96FF)
- Optional: RIDASOFT® Win.NET Food & Feed (Art. Nr. Z9996FF)

5.2. Reagents:

- Distilled or deionized water

6. Precautions

This test is intended exclusively for use within its specified purpose.

It must be performed only by trained laboratory personnel. The instructions for use must be followed precisely.

Safety information regarding its components can be found in the product Safety Data Sheets (SDS), available at:
https://food.r-biopharm.com/products/ridascreen-risk-material/

The microtiter strip wells (coated microtiter plate included in a Kit) must not be reused. Use separate pipette tips for each standard and each sample extract to prevent cross-contamination.

All reagents and other materials must be disposed of responsibly after use to protect human health and the environment. Observe all applicable national laws and regulations when disposing of materials.

7. Reagent Storage and Handling

Store all reagents between 2 °C to 8 °C (35 °F to 46° F). Never freeze any Test Kit components.

To remove microtiter strips, only open the foil pouch once it has reached room temperature (20 °C to 25 °C) (68 °F to 77 °F) to prevent condensation from forming in the wells.

Any unused wells and desiccant should be stored together in the sealed foil pouch and kept refrigerated between 2 °C to 8 °C (35 °F to 46 °F).

Protect the reddish-colored substrate/chromogen from direct light exposure, as it is sensitive to light.

Product quality can no longer be guaranteed once the expiration date has passed (refer to the Test Kit's outer label for the expiration date).

Individual reagents are not interchangeable with Kits from different Lot numbers.

8. Signs of Reagent Deterioration

- A bluish discoloration of the reddish substrate/chromogen solution prior to dispensing into the wells
- An extinction value below 0.6 ($E_{450\ nm} < 0.6$) for Standard 4 (2.0%)

9. Sample Preparation

Keep samples refrigerated until use.

Before starting, allow all reagents and samples to reach room temperature (20 °C to 25 °C) (68 °F to 77 °F) and perform all sample preparation steps at room temperature.

9.1. Component Preparation

Before use, dilute the sample buffer, which is supplied as a tenfold concentrate, at a ratio of 1:10 with distilled water (e.g. 10 mL concentrate plus 90 mL distilled water). We recommend preparing the dilution in a single step (i.e. mix 10 mL of buffer concentrate with 90 mL of distilled water). If crystals are detected within the concentrate, they must be dissolved beforehand by warming the solution in a water bath at 37 °C (98 °F).

The diluted sample buffer should be stored at 2 °C to 8 °C (35 °F to 46 ° F) and may be used until the expiration date indicated on the buffer label.

The **extraction buffer** is provided as a 10fold concentrate. Therefore the buffer concentrate has to be diluted 1:10 (1+9) with dist. water before use. Dissolve eventually occurring crystals in a water bath at 37 °C (98 °F) before dilution. We recommend dilution of the buffer concentrate in only one step (i.e. 100 mL concentrate + 900 mL dist. water).

The diluted buffer can be used up to the expiry date printed on the buffer label. To avoid new crystallization, the buffer can be stored at room temperature (20 °C– 25 °C / 68 °F- 77 °F).

9.2. Meat and Meat product samples

- Before analysis, thoroughly mix the sample to ensure reliable test results. CNS tissue contamination may be distributed unevenly within a sample, which can lead to inconsistent results.
- mix 2 g of the homogenized sample with 10 mL diluted extraction buffer (see 9.1.) in a centrifugal glass vial and shake vigorously for suspending (vortex)
- heat the sample for 15 min at 100 °C (212 °F)
- chill down the sample and centrifuge: 10 min / 3500 g / 10 °C (50 °F)
- remove the upper fat layer completely (draw off, e.g. by using a pasteur pipette)
- dilute the fat free supernatant 1:20 (1+19) with diluted sample dilution buffer (see 9.1.), e.g. 50 µL of supernatant + 950 µL of diluted buffer
- use 50 µL per well in the assay

10. Test Execution

10.1. Test Preparation

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

A PBS-Tween buffer is needed as **washing buffer**, please use the washing buffer salt (pouch) 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 at 2 °C- 8 °C (36 °F- 46 °F).

Alternative:

- Dissolve the contents of the sachet in 100 mL of distilled water to create a 10x concentrate. To prepare the ready-to-use solution, mix 1 part of the 10x concentrate with 9 parts of distilled water.
- The 10x concentrate can be stored at room temperature (20 °C to 25 °C) (68°F to 77 °F) for approximately 8 to 12 weeks.

Immediately return any unused reagents to storage from 2 °C to 8 °C (36 °F- 46 °F).

10.2. Test Execution

Avoid drying out the wells between steps. Consistent and thorough washing is critical for reliable test results. Always follow the specified washing sequences to ensure uniform treatment across all wells.

Use a multichannel or multistepper pipette when dispensing the conjugate, substrate/chromogen, and stop solution. This helps prevent timing delays across the microtiter plate.

During all incubation steps, keep the microtiter plate covered and protect it from direct sunlight.

1. Insert a sufficient number of wells into the microwell holder for all standards and samples to be run. Record standard and sample positions.
2. Pipet 50 µL of standard solution or prepared sample to separate wells.
3. Add 50 µL of enzyme conjugate (red cap) to the bottom of each well. Mix gently by shaking the plate manually and incubate for 30 min at room temperature (20 °C- 25 °C / 68 °F- 77 °F)

4. 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 washing buffer (see 10.1.) and pour out the liquid again. Repeat two more times (total of three wash cycles).
5. Add 100 µL of substrate/chromogen solution (brown cap) to each well and incubate for 30 min at room temperature (20 °C- 25 °C, 68 °F- 77 °F) in the dark.
6. Add 100 µL of stop solution (yellow cap) to each well. Mix gently by shaking the plate manually and measure the absorbance at 450 nm. Read within 30 minutes after addition of stop solution.

11. Interpretation

Color intensity of selected Standards serves as interpretive reference.

R-Biopharm offers an optional interpretation software tool specifically developed for the RIDASCREEN® enzyme immunoassays:

RIDASOFT® Win.NET Food & Feed (Art. Nr. Z9996FF).

Use 4-Parameter function to evaluate the results.

Verify that the test run meets all quality criteria from the certificate of analysis before evaluating. The standard curve shape is also provided in the certificate.

12. Interpretation of results

If a result is below the LoD, report it as “<Detection limit (%)“ since results below the LoD cannot categorically rule out all presence of CNS tissue.

13. Method Limitations

Follow all instructions (especially for sample prep, test execution, and storage) to achieve the specified detection limit.

Detection results and limits are influenced by several factors, including the sample matrix, laboratory conditions, level of processing, and extraction method.

This test is designed to detect central nervous system (CNS) tissue by identifying the Glial Fibrillary Acidic (GFAP) marker protein. It is important to note that the test is

calibrated specifically to bovine CNS (brain) tissue. When interpreting results, consider that marker protein concentrations may differ across species.

Marker protein concentrations may naturally vary within the same tissue type and between different types of CNS tissue (e.g. brain, spinal cord, eye), even among animals of the same species. Such variability can be significant. It may lead to differing levels of marker protein in the sample, which in turn can result in positive test outcomes at varying concentrations of CNS tissue.

To ensure accurate interpretation of results, always account for both species-specific and tissue-specific variability in marker protein content.

14. Recommendation

For reliable results:

- Pre-rinse pipette tips with the standard solution or sample extract before use
- Include control tests in routine quality checks to validate results and detect deviations.

15. Additional Applications

For additional details regarding the product and its uses, please contact: info@r-biopharm.de.

Version overview

Version number	Chapter and title
2010-07-01	Release version
2025-11-21	Current version Changes made: Comprehensive linguistic and formal revision Added and corrected product listings related to the detection of central nervous system (CNS) tissue

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

1. R-Biopharm AG provides a warranty that its products meet the specified requirements and are free from material and workmanship defects for 12 months following the transfer of risk. For products with limited shelf life, the warranty remains valid until the stated expiration date or, for limited-use items, until the stated number of uses has been reached. Warranty claims must be promptly and correctly submitted by the customer. A product is considered defective if it does not have the agreed features, is not suitable for its intended contractual use, or is not provided with the required accessories and instructions (collectively “Subjective Requirements”).

2. R-Biopharm AG assumes no liability for any consequences arising from the following:

   (a) Failure to read, comprehend, or adhere to product usage or safety instructions;

   (b) Employment of individuals who do not possess the necessary training or qualifications to use the product;

   (c) Non-compliance with relevant industry standards and practices, including Good Laboratory Practices;

   (d) Utilization of control materials, samples, sample matrices, or processing that are not appropriate for use with the product;

   (e) Any other improper use of the product;

   (f) Modifications or alterations of the product;

   (g) Improper storage by the customer or others;

   (h) Exposure to chemical, electromagnetic, mechanical, or electrolytic influences beyond standard ranges documented by R-Biopharm AG;

   (i) Damage or malfunctions resulting from external events beyond the control of R-Biopharm AG, such as burglary, theft, lightning, fire, water damage, or Force Majeure.

3. R-Biopharm AG is liable in cases of fraud, gross negligence, or intent, for injury to life, body, or health, for the assumption of a guarantee or procurement risk under Section 276 of the German Civil Code (BGB), or where liability is mandated by law.

For slight negligence, R-Biopharm AG is only liable for breaches of material contractual obligations necessary for the contract's purpose and relied on by the customer. In these cases, liability is limited to typical, foreseeable damage. R-Biopharm AG assumes no liability for other minor negligent breaches.

ALL OTHER EXPRESS OR IMPLIED WARRANTIES OR GUARANTEES OF ANY KIND ARE EXCLUDED, REGARDLESS OF WHETHER THEY ARE ASSUMED THROUGH CUSTOM, PRACTICE, COURSE OF DEALING, OR OTHERWISE.

R-Biopharm AG accepts no liability for consequential damages, in particular lost profits, production delays, or other indirect losses.

R-Biopharm AG
Postanschrift / Mailing 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 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