RIDASCREEN® Risk Material 10/5

REF R6703

Enzymimmunoassay zur Bestimmung
von Risikomaterial (ZNS) in / auf Rohfleisch
sowie auf kontaminierten Oberflächen

Enzyme immunoassay for the detection
of risk materials (CNS) in or on raw meat
and on contaminated surfaces

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

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

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

E-Mail: orders@r-biopharm.de

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

E-mail: orders@r-biopharm.de

Marketing & Vertrieb
E-Mail: info@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 10/5 (Art. Nr.: R6703) 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 / auf frischen Rohfleisch Fleisch- und Rohwurstwaren sowie auf kontaminierten Oberflächen (siehe Kapitel 1. Verwendungszweck).
Für die Untersuchung von erhitzten Fleisch- und Wurstwaren ist dieser Test nicht geeignet; dafür wird der RIDASCREEN® Risk Material (Art. Nr.: R6701) 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:	mit einem Swab aufgenommene / eingewogene Probe in Probenpuffer überführen, ggf. vortexen und zentrifugieren
Zeitbedarf:	Probenvorbereitung (für 10 Fleischproben) ca. 10 min Testdurchführung (Inkubationszeit) 15 min
Nachweisgrenze:	≤ 0,1 % für ZNS-Gewebe* in frischem Rohfleisch- und Wurstwaren matrixabhängig
Bestimmungsgrenze:	0,1 % für ZNS-Gewebe* in frischem Rohfleisch- und Wurstwaren matrixabhängig
Spezifität:	Mit dem RIDASCREEN® Risk Material 10/5-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 R6701
Abstrichtupfer (Swab) und Probenröhrchen Z0010

1. Verwendungszweck

RIDASCREEN® Risk Material 10/5 ist ein Sandwich-Enzymimmunoassay zur Bestimmung von Risikomaterial (ZNS) in / auf frischen rohen Fleisch- und Wurstwaren sowie zum Nachweis von Risikomaterial (ZNS) auf kontaminierten Oberflächen.

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 (einschließlich Standardbestimmungen). Jedes Testkit enthält

Komponente	Deckelfarbe	Zustand		Inhalt
Microtiterplate Mikrotiterplatte	-	Gebrauchsfertig		96 Kavitäten
Sample buffer Probenpuffer	Weiß	**Konzentrat**	**10-fach**	10 ml
Standard 1* Standard 1	Weiß	Gebrauchsfertig	0 %	1,3 ml
Standard 2* Standard 2	Weiß	Gebrauchsfertig	0,1 %	1,3 ml
Standard 3* Standard 3	Weiß	Gebrauchsfertig	0,2 %	1,3 ml
Standard 4* Standard 4	Weiß	Gebrauchsfertig	0,4 %	1,3 ml
Wash buffer salt Tween Waschpuffersalz Tween	-	**Salz zum Auflösen**	-	-
Conjugate Konjugat	Rot	Gebrauchsfertig	-	6 ml
Substrate/Chromogen Substrat/Chromogen Red Chromogen Pro	Braun	Gebrauchsfertig	-	10 ml
Stop Solution Stopp-Lösung	Gelb	Gebrauchsfertig	-	14 ml
2x Pasteur-pipette	-	Gebrauchsfertig		1 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 50 mg, Genauigkeit von ± 0,001 g)
- Schlagmühle, Mörser, Ultra-Turrax oder Homogenisator
- Messzylinder (Kunststoff oder Glas) 25 ml
- Zentrifuge (mind. 3.500 x g) + zentrifugierbare Reagenzröhrchen mit Verschluss
- 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)

Als Probenahme Zubehör unter Art, Nr. Z0010 von R-Biopharm zu beziehen

- Abstrichtupfer (Swab)
- Probenröhrchen

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-105/**

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 (0,4 %)

9. Probenvorbereitung

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

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.

Pro Bestimmung 1 ml verdünnten Puffer mit den im Test enthaltenen graduierten Pipetten in ein Probenröhrchen vorlegen.

9.2 Proben von Rohfleisch- und Rohwurst

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. Eine größere Probenmenge erhöht die Probenhomogenität. Bei homogenisierten Proben den trockenen Abstrichtupfer mehrmals in die rohe Probenmasse eintauchen. Feste Fleischstücke gründlich mit dem Abstrichtupfer abwischen, dabei durch Drehen die gesamte Oberfläche des Tupfers in Kontakt mit der Probe bringen.

- Probe durch mehrmaliges Ausdrücken des Tupfers am Gefäßrand bei gleichzeitigem Drehen in 1 ml verdünnten Probenpuffer (siehe 9.1.) überführen
- (alternativ 50 mg Probe einwiegen und 1 ml verdünnten Probenpuffer (siehe 9.1.) zugeben) Probe gut vortexen
- Probe ggf. zentrifugieren: 5 min / ≥ 3500 g / Raumtemperatur (20 – 25 °C)
- pro Kavität 50 µl (vom Überstand) im Test einsetzen

9.3 Oberflächen und Geräte

- Abstrichtupfer mit verdünntem Probenpuffer (siehe 9.1.) benetzen
- gründliches kreuzweises Abwischen einer ca. 10 x 10 cm großen Fläche oder einer Gerätefläche
- Probe durch mehrmaliges Ausdrücken des Tupfers am Gefäßrand bei gleichzeitigem Drehen in 1 ml verdünnten Probenpuffer (siehe 9.1.) überführen
- Probe gut vortexen
- pro Kavität 50 µl im Test einsetzen

9.4 Lagerung der Proben:

Proben müssen frisch sein und können gekühlt bis zu zwei Tage aufbewahrt werden. Die in Probenpuffer aufgenommenen Proben können bei 2 - 8 °C max. 1 Tag aufbewahrt 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 Pufferbriefchen (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). 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.

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. Es sollten nicht mehr als 4 Streifen zu je 8 Kavitäten gleichzeitig bearbeitet werden (28 Proben + 4 Standards).
2. Je 50 µl der Standardlösung bzw. der vorbereiteten Proben in die

entsprechenden Kavitäten pipettieren.

3. Je 50 µl Konjugat (roter Verschluss) in die entsprechenden Kavitäten pipettieren, vorsichtig manuell mischen und 10 min (+/- 1 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 gelöstem Waschpuffer (siehe 10.1.) befüllen und anschließend wie zuvor entleeren. Diesen Vorgang zweimal wiederholen (insgesamt drei Waschzyklen).
5. Je 100 µl Substrat-/Chromogenlösung (brauner Verschluss) in die Kavitäten pipettieren und 5 min (+/- 1 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 15 min nach Zugabe des Stopp-Reagenzes messen.
7.

11. Auswertung

Die Farbintensität der ausgewählten Standards dient als Referenz.

Für die Auswertung ist bei R-Biopharm optional eine speziell für die RIDASCREEN® Enzymimmunoassays entwickelte Software, die **RIDASOFT® Win.NET Food & Feed (Art. Nr. Z9996FF)**, erhältlich. Die Auswertung sollte mittels linearer Regression 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.

Graphische Auswertung:
Die Extinktionswerte für die Standards werden in einem Koordinatensystem auf Millimeterpapier gegen die Risikomaterial-Gehalte [%] aufgetragen. Eine Eichgerade wird durch die Messpunkte für die Standards gelegt, und die Risikomaterial-Konzentration in % kann dann entsprechend der Extinktion für jede Probe aus der Eichkurve abgelesen 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	– Generelle sprachliche und formelle Überarbeitung – Ergänzung/Korrektur weiterer Produkte für den Nachweis von ZNS-Gewebe
2026-10-05	Vorgenommene Änderungen: – Generelle sprachliche und formelle Überarbeitung

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 10/5

Brief Overview

RIDASCREEN® Risk Material 10/5 (Art. No.: R6703) is a sandwich enzyme immunoassay for the detection of specified risk materials in or on fresh, uncooked meat and meat products, as well as on contaminated surfaces, 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”).
This test is not suitable for the analysis of heat-treated meat or sausage products. For this purpose, RIDASCREEN® Risk Material (Art. No.: R6701) is recommended.
All reagents required for performing the enzyme immunoassay, including internal standards, are included in the Test Kit. The Test Kit is sufficient for a maximum of 96 determinations (including standard determinations). A microtiter plate photometer is required for evaluation.

Sample preparation:	Transfer the swab-collected or weighed sample into sample buffer. If necessary, vortex and centrifuge
Time requirement:	sample preparation (10 meat samples) approx. 10 min test implementation (incubation time) 15 min
Limit of Detection (LoD):	≤ 0.1 % for CNS tissue* in fresh and raw meat and meat products (matrix- dependent)
Limit of Quantification (LoQ):	0.1 % for CNS tissue* in fresh and raw meat and meat products (Matrix-dependent)

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

Specificity:	The RIDASCREEN® Risk material 10/5 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).

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 R6701
Swabs and sample tubes Z0010

1. Intended Use

RIDASCREEN® Risk Material 10/5 is a sandwich enzyme immunoassay for the detection of risk material (CNS) in or on raw meat, meat products, as well as on contaminated surfaces.

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. Testing Principles

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 96 measurements (including standard analyses). Each package contains:

Component	Cap color	Format		Volume
Microtiterplate	-	Ready to use		96 Cavities
Sample buffer	White	**Concentrate**	**10 x**	10 mL
Standard 1*	White	Ready to use	0 %	1.3 mL
Standard 2*	White	Ready to use	0.1 %	1.3 mL
Standard 3*	White	Ready to use	0.2 %	1.3 mL
Standard 4*	White	Ready to use	0.4 %	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
2x Pasteur Pipette	-	Ready to use		1 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. Additional Reagents Required – Required Accessories

- Variable 20 to 200µl and 200 to 1000µl micropipettes
- Mikrotiter Plate Photometer (450 nm)
- Laboratory gloves
- If necessary, a scale (measuring range at least up to 50mg, accuracy of ± 0.001g)
- Impact mill, mortar, ultra-turrax or homogenizer
- Graduated cylinder (plastic or glass) 25mL
- Centrifuge (min. 3,500 x g) & centrifuge test tubes with cap
- Vortexer If necessary, Multistepper or 8-channel pipette for 50µL, 100µL and 250µL
- Optional: RIDA®ABSORBANCE 96 (Art. Nr. ZRA96FF)
- Optional: RIDASOFT® Win.NET Food & Feed (Art. Nr. Z9996FF)

As sampling accessories under Item No.: Z0010 from R-Biopharm

- Swabs
- Sample Tubes

5.1 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/de/produkte/ridascreen-risk-material-105/

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° 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° 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° 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 (E450nm < 0.6) for Standard 4 (0.4%)

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° 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. 10ml concentrate plus 90ml 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° to 46° F) and may be used until the expiration date indicated on the buffer label.

For each determination, prepare 1 mL of diluted buffer in a sample tube using one of the graduated pipettes provided in the Test Kit.

9.2 Samples of raw meat and meat product (sausage)

- Before analysis, thoroughly homogenize the sample to ensure an even distribution of any potential CNS material contamination throughout the sample. Because such contamination may be present in localized areas, uneven distribution can result in inconsistent test results. Larger sample sizes tend to improve sample homogeneity.
- Dip the dry swab several times into the raw and homogenized sample mass. For solid meat pieces, wipe the surface thoroughly with the swab in a rotating motion to ensure full contact between the entire swab surface and the sample.
- Transfer the sample by pressing the swab several times against the inner wall of the tube while rotating it in 1 mL of diluted sample buffer (see section 9.1).
- (Alternatively, weigh 50 mg of sample and add 1 mL of diluted sample buffer [see section 9.1]).
- Vortex the sample thoroughly.
- If necessary, centrifuge the sample: 5 minutes at ≥ 3500 × g at room temperature (20°C to 25°C) (68° to 77° F).
- Use 50 µL of the supernatant per well in the test.

9.3 Surfaces and Devices

- Moisten a swab with diluted sample buffer (see section 9.1).
- Using a crisscross motion, thoroughly wipe a surface area or relevant device area of approximately 10×10 cm (4 x 4 in).
- Transfer the sample into 1 mL of diluted sample buffer (see section 9.1) by pressing and rotating the swab against the inner wall of the tube.
- Vortex the sample thoroughly.
- Apply a 50 µL sample for each well in the test.

9.4 Sample Storage:

Samples must be fresh and uncooked and may be stored refrigerated for up to two days. Samples transferred into the sample buffer may be stored at 2°C to 8°C (35° to 46° F) for a maximum of 1 day.

Before testing, bring the samples to room temperature (20°C to 25°C) (68 to 77° F) and briefly mix by shaking.

10. Test Execution

10.1 Test Preparation

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

A PBS-Tween buffer is required as the **wash buffer**. Please use the enclosed buffer envelope (See Section 4). To prepare the buffer, dissolve the entire contents of the envelope in 1 liter of distilled water. Once prepared, the wash buffer can be stored at 2°C to 8°C (35° to 46° F).

for approximately 4 to 6 weeks.

Alternative:

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

Immediately return any unused reagents to storage from 2°C to 8°C (35° to 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 as many wells into the holder frame as needed for all standards and samples. Record the positions of the standards and samples. No more than 4 strips of 8 wells each (i.e. 28 samples plus 4 standards) should be processed at the same time.
2. Pipette 50µl of each standard solution or prepared sample into the designated well.

3. Add 50 µL of conjugate (Red Cap) to each well. Mix gently by shaking the plate manually and incubate for 10 minutes (±1 minute) at room temperature (20° to 25°C (68° to 77° F)).
4. Empty the wells by firmly tapping out the liquid, then remove residual fluid by striking the plate three times onto absorbent laboratory paper. Fill each well with 250 µL of diluted wash buffer (see Section 10.1), then empty as described above. Repeat this step two more times (total of three wash cycles).
5. Add 100 µL of substrate/chromogen solution (Brown Cap) to each well and incubate in the dark for 5 minutes (±1 minute) at room temperature (20° to 25°C (68° to 77° F)).
6. Add 100 µL of stop reagent (Yellow Cap) to each well and mix gently by shaking the plate manually. Measure absorbance at 450 nm within 15 minutes after adding the stop reagent.

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 linear regression 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.

Graphical Interpretation:
Extinction values for the Standards are plotted on a standard graph paper coordinate system, using extinction values on the y-axis and risk-tissue concentrations [%] on the x-axis. A calibration line through the standard data points is then applied. The CNS tissue concentration (%) for each sample can then be determined by locating its extinction value on the calibration curve and finding the corresponding concentration.

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	Comprehensive linguistic and formal revision Added and corrected product listings related to the detection of central nervous system (CNS) tissue
2026-10-05	Current version Changes made: Comprehensive linguistic and formal revision

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

7. 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