RIDA® QUICK DON

Immunchromatographischer Test
zum Nachweis von DON

Immunochromatographic test
for the detection of DON

Art. No.: R5904

In vitro Test
Lagerung bei Raumtemperatur (20 - 25 °C)
Storage at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F)

R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany
Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Telefax: +49 (0) 61 51 81 02-20

Anschrift:

R-Biopharm AG
Landwehrstr. 54
D-64293 Darmstadt
www.r-biopharm.de

Für weitere Fragen stehen Ihnen gerne zur Verfügung:

Telefon:

Zentrale / Auftragsannahme	(0 61 51) 81 02-0
Sekretariat Marketing	(0 61 51) 81 02-84

Telefax / E-Mail:

Auftragsannahme	(0 61 51) 81 02-20 orders@r-biopharm.de
Marketing	(0 61 51) 81 02-40 info@r-biopharm.de

RIDA® und RIDASCREEN®
sind eingetragene Warenzeichen der R-Biopharm AG
Hersteller: R-Biopharm AG, Darmstadt, Deutschland

_____

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

Kurzinformation

RIDA® QUICK DON (Art. Nr.: R5904)
Immunchromatographischer Test zum Nachweis von DON in Getreide (Weizen).
Alle Reagenzien für die Durchführung des Tests sind im Testkit enthalten.
Ein Testkit enthält 25 Teststreifen für je eine Bestimmung.
Die Auswertung erfolgt visuell.

Probenvorbereitung:	Homogenisieren Extrahieren
Zeitbedarf:	Probenvorbereitung (für 10 Proben) ..... ca. 10 min Testdurchführung ..... ca. 5 min (unabhängig von der Probenzahl)
Nachweisgrenze:	ca. 1 ppm DON bei Verdünnungsfaktor 5 ca. 2 ppm DON bei Verdünnungsfaktor 10 (siehe 8.2. Probenvorbereitung und 11. Sensitivität)

1. Verwendungszweck

Der RIDA® QUICK DON Test ist ein qualitativer immunchromatographischer Test im Teststreifenformat zum Nachweis von DON in Getreide (Weizen).

2. Allgemeines

Deoxynivalenol, ein Mykotoxin aus der Gruppe der Trichothecene, wird von Pilzen der Gattung *Fusarium* gebildet. Deoxynivalenol kann in pflanzlichen Produkten, vor allem in Getreide, nachgewiesen werden. Von den mehr als 100 bekannten Trichothecenen ist in Europa und Nordamerika Deoxynivalenol das vorherrschende Toxin.
Mit dem RIDA® QUICK DON-Test kann Deoxynivalenol in Getreide (Weizen) schnell und ohne apparativen Aufwand qualitativ nachgewiesen werden.

3. Testprinzip

Der immunchromatographische Test in Form eines Teststreifens basiert auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion. Ein spezifischer anti-DON Antikörper erkennt die DON-Moleküle in Weizenproben. Die Auswertung erfolgt visuell durch Beobachten der Entwicklung von gefärbten Banden. Die C-Bande (Kontrollbande) wird nicht von DON in der Getreideprobe beeinflusst und sollte daher nach Ablauf der Reaktion stets zu erkennen sein, um die Funktionstüchtigkeit des Tests zu belegen.
Die T-Bande (Testbande) ist bei Abwesenheit von DON in der Weizenprobe sichtbar und bei DON-Gehalten von ca. 1 ppm und mehr schwach oder nicht mehr zu erkennen.

4. Packungsinhalt

Mit den Reagenzien einer Packung können 25 Bestimmungen durchgeführt werden. Jeder Testkit enthält:

25 x Teststreifen (für je eine Bestimmung)
1 x PBS-Puffer (Salz)
zur Herstellung eines 10 mM Phosphatpuffers (pH 7,4)
1 x Extraktionspuffer-Zusatz (5 ml)
Extraktionspuffer-Herstellung siehe 8.1.
1 x Auswertekarte

5. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

5.1. Geräte:

- Schlagmühle, Mörser
- optional: Schüttler
- Einweg-Pipetten

5.2. Reagenzien:

- destilliertes oder deionisiertes Wasser

6. Vorsichtsmaßnahmen

Nach Ablauf des Verfallsdatums (siehe Testkit-Außenetikett unter Expiration) kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.

Die Teststreifen sind feuchtigkeitsempfindlich. Feuchte Teststreifen können das Testergebnis negativ beeinflussen, deshalb unbedingt vor Feuchtigkeit schützen!

7. Reagenzien und ihre Lagerung

Den ungeöffneten Test bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) lagern. Die Teststreifen auf keinen Fall einfrieren.

Den geöffneten Behälter mit den Teststreifen **nicht im Kühlschrank** aufbewahren, um Wasserkondensation zu vermeiden.

8. Testvorbereitungen

8.1. Extraktionspuffer

Der Test enthält einen Beutel mit PBS-Puffersalz. Zur Herstellung des Extraktionspuffers wird der gesamte Inhalt des Beutels in 1 Liter dest. Wasser vollständig gelöst. Die 5 ml Extraktionspuffer-Zusatz (siehe 4.) zu dieser Pufferlösung hinzugeben. Diesen Ansatz gründlich mischen. Der Extraktionspuffer ist bei 4 - 8 °C ca. vier Wochen haltbar.
Den gelösten Extraktionspuffer vor dem Einsatz im Test auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) bringen!

8.2. Probenvorbereitung

Die Proben kühl und lichtgeschützt lagern.
Eine repräsentative Probe (eine unter offiziellen Probenahme-Vorschriften gezogene Probe) vor dem Extrahieren zerkleinern und mischen.

- 1 g (1 : 10 Verdünnung / 2 ppm) bzw. 2 g (1 : 5 Verdünnung / 1 ppm) der zerkleinerten Probe einwiegen und 10 ml Extraktionspuffer (siehe 8.1.) hinzufügen
- Röhrchen verschließen und die Probe 3 min kräftig schütteln (manuell oder mittels Schüttler)
- diese Lösung ca. 3 min sedimentieren lassen
- 120 µl des Überstandes auf das Probenfeld des Membranstreifens auftragen

Anmerkung:

Die Probeneinwaage kann bei Bedarf erhöht werden. Das Volumen des Extraktionspuffers muss dann entsprechend angepasst werden (z.B. 2 g in 20 ml ➔ 1 :10 Verdünnung oder 4 g in 20 ml ➔ 1 : 5 Verdünnung).

9. Testdurchführung

- 120 µl des Überstandes (siehe 8.2. Probenvorbereitung) auf das Probenfeld des Teststreifens auftragen
- das Ergebnis muss nach 5 min abgelesen werden

10. Auswertung

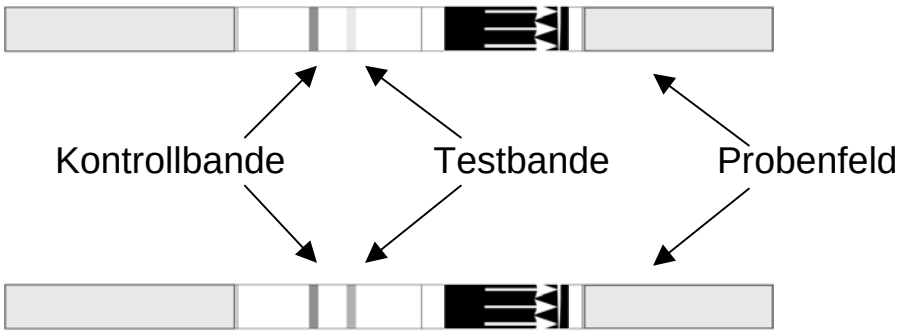
Die obere Bande im Reaktionsfeld ist eine Kontrollbande und muss nach jedem Testlauf erscheinen. Fehlt diese Bande, wurde der Test nicht sachgemäß durchgeführt oder die Reagenzien waren nicht in Ordnung. Der Test sollte in diesem Fall mit einem neuen Streifen wiederholt werden. Bei wiederholtem Fehlen der oberen Bande, informieren Sie uns bitte.

Sobald die Kontrollbande deutlich sichtbar ist (ca. 5 min nach Auftragen der Probe), ist der Test valide und kann entsprechend ausgewertet werden.

Um vergleichbare Ergebnisse zu erzielen, sollten die Streifen immer nach 5 min ausgewertet werden.

Die Banden bleiben lichtgeschützt gelagert über mehrere Tage unverändert sichtbar.

Abb. 1: positives Ergebnis, DON-Gehalt ≥ 1 mg/kg (ppm)



negatives Ergebnis, DON-Gehalt ≤ 1 mg/kg (ppm)

10.1. Kontrollbande

Der Test ist valide, wenn **die Kontrollbande (C) im Kontrollfeld deutlich sichtbar** ist (siehe Auswertekarte: Teststreifen 1 - 4).

10.2. Negative Probe

Die Getreideprobe enthält kein DON (oder weniger als die kalkulierte Nachweisgrenze), wenn die **Kontrollbande (C) und die Testbande (T) deutlich sichtbar** sind (siehe Auswertekarte: Teststreifen 1 und 2).

10.3. Positive Probe

Die Getreideprobe enthält DON, wenn die **Kontrollbande (C) vorhanden ist und die Testbande (T) nur schwach sichtbar** ist (siehe Auswertekarte: Teststreifen 3 und 4).

11. Sensitivität

Mit dem RIDA® QUICK DON-Test ist es je nach Verdünnung möglich DON-Kontaminationen von 1 mg/kg (ppm) / 1 : 5 Verdünnung bzw. 2 mg/kg (ppm) / 1 : 10 Verdünnung nachzuweisen. Ein positives Ergebnis bedeutet, dass die Probe ≥ 1 mg/kg (ppm) DON bzw. ≥ 2 mg/kg (ppm) DON enthält.

12. Spezifität

Der RIDA® QUICK DON-Test erfasst DON in Weizenproben und ist bisher für Weizenproben validiert.

Diese Angaben entsprechen dem heutigen Stand unserer Kenntnisse und sollen über unsere Produkte und deren Anwendungsmöglichkeiten informieren. Sie haben somit nicht die Bedeutung, bestimmte Eigenschaften der Produkte oder deren Eignung für einen konkreten Einsatzzweck zuzusichern. R-Biopharm übernimmt keine Gewährleistung, außer für die standardisierte Qualität der Reagenzien. Defekte Produkte werden ersetzt. Darüber hinaus gehende Ansprüche für direkte oder indirekte Schäden oder Kosten aus der Nutzung der Produkte entstehen nicht.

RIDA® QUICK DON

Immunochromatographic test
for the detection of DON

Brief information

RIDA® QUICK DON (Art. No.: R5904)
Immunochromatographic test for the detection of DON in grain (wheat).
All reagents required for the assay are contained in the test kit.
The test kit contains 25 reaction strips for one determination each.
Results are read visually.

Sample preparation:	homogenization extraction
Time requirement:	sample preparation (for 10 samples)..... approx. 10 min test implementation ..... approx. 5 min (regardless of the number of samples)
Detection limit:	approx. 1 ppm DON with a dilution factor of 5 approx. 2 ppm DON with a dilution factor of 10 (see 8.2. Sample Preparation and 11. Sensitivity)

1. Intended use

The RIDA® QUICK DON test is a qualitative immunochromatographic test in strip formate for the detection of DON in grain (wheat).

2. General

Deoxynivalenol belongs to the trichothecene group of mycotoxins and is formed by fungi of the genus *Fusarium*. Deoxynivalenol often occurs in plant products particularly in cereals. Of more than 100 known trichothecenes the mycotoxin deoxynivalenol is the most frequently occurring in Europe and Northern America. With the RIDA® QUICK DON test it is possible to detect DON qualitatively in grain (wheat) rapidly and without technical equipment.

3. Test principle

The basis of the immunochromatographic assay in test strip formate is an antigen-antibody reaction. A specific antibody against DON recognizes the DON molecules in wheat samples. The results are read visually by observing the development of coloured bands.
The control band (C) is not influenced by DON in the grain sample and should be present in all reactions to prove the test strip is functional.
The test band (T) is visible in the absence of DON in the wheat sample and if DON is present in concentrations of 1ppm and higher the band is faint or absent altogether.

4. Reagents provided

Each kit contains sufficient materials for 25 determinations.
Each test kit contains:

25 x reaction strips (one for each determination)
1 x PBS-buffer (Salt)
for preparation of a 10 mM Phosphate Buffer (pH 7.4)
1 x extraction buffer additive (5 ml)
preparation of the extraction buffer see 8.1.
1 x evaluation card

5. Materials required but not provided

5.1. Equipment:

- laboratory mincer / grinder
- optional: shaker
- disposable pipettes

5.2. Reagents:

- distilled or deionized water

6. Warnings and precautions for the users

Do not use RIDA® QUICK DON kit past the expiration date on the kit label.

The reaction strips are sensitive to humidity, that could turn the test useless. For this reason keep the strips away from humidity.

7. Storage instructions

Store the unopened kit at room temperature (20 – 25 °C / 68 - 77 °F). DO NOT FREEZE the reaction strips.

Do not store the opened box with the reaction strips in a refrigerator to avoid condensation.

8. Test preparations

8.1. Extraction buffer

The kit contains a pouch with PBS buffer salt. One pouch is dissolved completely in 1 liter of distilled water. To this buffer solution add the 5 ml of extraction buffer additive (see 4.) and mix briefly. The ready to use extraction buffer expires after approx. 4 weeks stored at 4 - 8 °C (39 - 46 °F).

Bring the solved extraction buffer to room temperature (20 – 25 °C / 68 - 77 °F) before use!

8.2. Sample preparation

The samples should be stored in a cool place, protected from light.
A representative sample (according to accepted sampling techniques) should be ground and thoroughly mixed prior to proceeding with the extraction procedure.

- weigh 1 g (1 : 10 dilution / 2 ppm) or 2 g (1 : 5 dilution / 1 ppm) of ground sample into a suitable container and add 10 ml of extraction buffer (see 8.1.)
- close the tube and shake the sample vigorously for 3 min (manually or with shaker)
- let the solution come to sedimentation for approx. 3 min
- apply 120 µl of the supernatant onto the test area of the reaction strip

Remark:

If necessary the sample weight can be increased. Then the volume of the extraction buffer has to be adapted (e.g. 2 g in 20 ml ➔ 1 : 10 dilution or 4 g in 20 ml ➔ 1 : 5 dilution)

9. Test procedure

- Apply 120 µl of the supernatant (see 8.2. Sample preparation) on the test area of the reaction strip.
- The result must be read after 5 min.

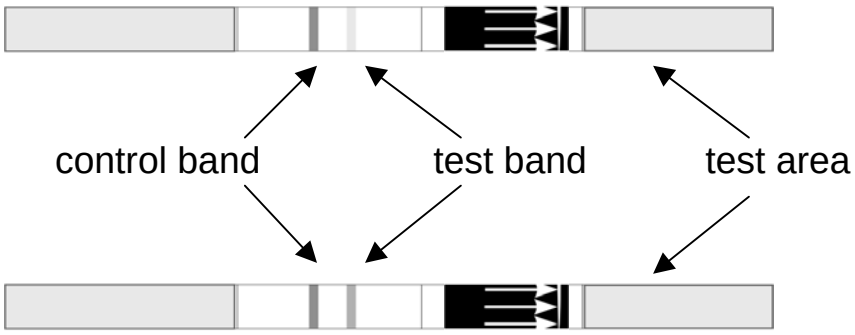
10. Results

The upper band in the field of reaction is a control band and must appear in each reaction strip after the test procedure is done. If the band is missing, the test should be voided since improper test procedure or deterioration of the reagents has occurred. Repeat the test with a new strip. If the band is missing again, please inform your local distributor.

A test is valid and should be evaluated as close to 5 min as possible. There is a tendency for the test band to darken slightly after this time. Consistent timing will yield the best results.

The bands remain stable stored protected from light over several days.

Fig.1: Positive result, DON level ≥ 1 mg/kg (ppm)



Negative result, DON level ≤ 1 mg/kg (ppm)

10.1. Control band

The test is valid, if **the control band (C) is clearly visible** (see evaluation card: teststrips 1 - 4).

10.2. Negative sample

The grain sample is free of DON (or less than the calculated detection limit), if the **the control band (C) and the test band (T) are clearly visible** (see evaluation card: teststrip 1 and 2).

10.3. Positive sample

The grain sample is contaminated with DON, if the **control band (C) is visible and the test band (T) is only faintly visible** (see evaluation card: teststrip 3 and 4).

11. Sensitivity

The RIDA® QUICK DON test is (dependent on the dilution) capable of detecting DON contaminations of 1 mg/kg (ppm) / 1 : 5 dilution or 2 mg/kg (ppm) / 1 : 10 dilution. A positive result indicates that the sample has a DON content of ≥ 1 mg/kg (ppm) respectively ≥ 2 mg/kg (ppm).

12. Specificity

The RIDA® QUICK DON test reacts with the DON in grain and the test has been validated for wheat up to now.

R-Biopharm makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. If any materials are defective, R-Biopharm will provide a replacement product. There is no warranty of merchantability of this product, or of the fitness of the product for any purpose. R-Biopharm shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.

Appendix

1. Apsimon, J. W. et al; Pure Appl. Chem. 62: 1339 (1990):
   Mycotoxins from Fusarium species: detection, determination and variety
2. Gareis, M. et al; In Chelkowsky, J. (Ed.): Fusarium mycotoxins taxonomy and pathogenicity, p. 441, Elsevier Amsterdam (1989):
   Contamination of cereals and feed with Fusarium mycotoxins in European countries
3. Engelhardt, G., et al; Z. Lebensm. Unters. Forsch. 182: 123 - 126 (1986):
   Production of mycotoxins by Fusarium species isolated in Germany
   1. Time course of deoxynivalenol, 3-acetyldeoxynivalenol, and zearalenone formation on solid substrates
4. Pohland, A. E., Wood, G. E.; In Krogh, P. (Ed.): Mycotoxins in food, p. 35, Academic Press London (1971):
   Occurrence of mycotoxins in food