

Product information

Information about other products is available at: www.demeditec.com



T2 Toxin ELISA

REF

DET2TE03



96



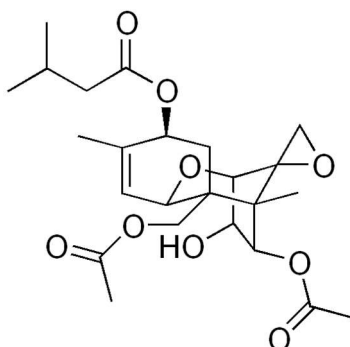
Demeditec Diagnostics GmbH
Lise-Meitner-Strasse 2
24145 Kiel – Germany
www.demeditec.com

TABLE OF CONTENTS / INHALTSVERZEICHNIS

1. GENERAL INFORMATION	3
2. PRINCIPLE OF THE TEST	3
3. PRECAUTIONS	3
4. HEALTH AND SAFETY INSTRUCTIONS	4
5. REAGENTS	4
6. ADDITIONAL INSTRUMENTATION AND REAGENTS (NOT PROVIDED)	4
7. SAMPLE PREPARATION	4
8. PROCEDURE	5
9. CALCULATION OF RESULTS	5
10. TYPICAL STANDARD VALUES	5
11. PERFORMANCE	6
1. ALLGEMEINES	7
2. TESTPRINZIP	7
3. VORSICHTSMAßNAHMEN	8
4. GESUNDHEITS- UND SICHERHEITSVORSCHRIFTEN	8
5. REAGENZIEN	8
6. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE GERÄTE UND REAGENZIEN	9
7. PROBENVORBEREITUNG	9
8. TESTDURCHFÜHRUNG	9
9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE	10
10. TYPISCHE STANDARDKURVE	10
11. TECHNISCHE DATEN	10
12. REFERENCES / LITERATUR	12
SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS	12

Sensitivity	5 – 16 ppb
Recovery (spiked samples)	92-105%
Incubation Time	20 min

1. GENERAL INFORMATION



T-2 Toxin in addition to deoxynivalenol, zearalenone, the fumonisins and other trichothecenes belongs to the fusarium toxins. These toxins are already produced on the field in consequence of a contact of the cereals by fusarium species. Acute toxic dosages can result in gastroenteritis, damage of bone marrow up to necrosis of skin and respiratory passages. T-2 toxin has a high stability against temperature and can therefore also be detected in bakery products. In Russia the legislator set limit values for T-2 Toxin in food between 50 and 100 ppb. The introduction of limit values in the European union is discussed since many years. Thus an observation of food and feed with respect to the concentration of T-2 Toxin is increasingly obligatory. The **Demeditec T2 Toxin ELISA** represents a highly sensitive detection system and is particularly capable of the rapid quantification of T-2 Toxin contaminations in cereals, beer, milk and meat.

2. PRINCIPLE OF THE TEST

The **Demeditec T2 Toxin ELISA** quantitative test is based on the principle of the enzyme-linked immunosorbent assay. An antibody binding protein is coated on the surface of a microtiter plate. The standards and samples respectively are pipetted together with a T-2 Toxin-peroxidase conjugate and a rabbit-anti-T-2 Toxin antibody into the appropriate wells. The conjugate competes with the T-2 Toxin of samples/standards for the limited number of antibody sites. Simultaneously the anti-T-2 Toxin antibody is bound to the antibody-binding protein coated on the microtiter plate. After 10 min incubation at room temperature, the wells are washed with diluted washing solution to remove unbound material. A substrate solution is added and incubated for 10 minutes, resulting in the development of a blue colour. The colour development is inhibited by the addition of a stop solution, and the colour turns yellow. The yellow colour is measured photometrically at 450 nm. The concentration of T-2 Toxin is indirectly proportional to the colour intensity of the test sample.

3. PRECAUTIONS

Full compliance of the following good laboratory practices (GLP) will determine the reliability of the results:

1. Prior to beginning the assay procedure, bring all reagents to room temperature (20-25°C).
2. All reagents should be mixed by gentle inversion or swirling prior to use. Do not induce foaming.
3. Once the assay has been started, all subsequent steps should be completed without interruption and within the recommended time limits.
4. Replace caps in all the reagents immediately after use. Do not interchange vial stoppers.
5. Use a separate disposable tip for each specimen to prevent cross-contamination.
6. All specimens and standards should be run at the same time, so that all conditions of testing are the same.
7. Do not mix components from different batches.
8. Do not use reagents after expiration date.
9. Check both precision and accuracy of the laboratory equipment used during the procedure (micropipettes, ELISA reader etc.).

4. HEALTH AND SAFETY INSTRUCTIONS

1. Do not smoke or eat or drink or pipet by mouth in the laboratory.
2. Avoid contact of substrate and stop solution with skin and mucosa (possible irritation, burn or toxicity hazard). In case of contact, rinse the affected zone with plenty of water.
3. Handling and disposal of chemical products must be done according to good laboratory practices (GLP).

5. REAGENTS

The kit contains reagents for 96 determinations. They have to be stored at 2-8°C. Expiry data are found on the labels of the bottles and the outer package.

1. **SORB MT** Microtiter plate consisting of 12 strips with 8 breakable wells each, coated with antibody-binding protein.
2. **CAL 1 – 6** T-2 Toxin Standards (0; 17.5; 87.5; 350; 875; 1750 ppb): 6 vials with 1 mL each, dyed red, in methanol, ready-to-use. Because of the total dilution of 1:35 of the solid samples in the extraction step, the calibrators contain 1/35th of the stated value. Thus no further calculation after analysis is necessary.
3. **Ab** Anti-T-2 Toxin Antibody (rabbit): 6 mL, dyed blue, ready-to-use.
4. **ENZ CONJ** Conjugate (T-2 Toxin-Peroxidase): 6 mL, dyed red, ready-to-use.
5. **SUB TMB** Substrate Solution (TMB): 15 mL, ready-to-use.
6. **STOP SOLN** Stop Solution (0.5 M H₂SO₄): 15 mL, ready-to-use.
7. **SAM DIL** Sample Diluent (PBS): 2 x 60 mL, dyed red, ready-to-use.
8. **WASH SOLN 10x** Washing Solution (PBS + Tween 20): 60 mL as 10x concentrate. Dilute 1+9 with distilled water. If during the cold storage crystals precipitate, the concentrate should be warmed up to 37°C for 15 minutes.
9. Instruction Manual.

6. ADDITIONAL INSTRUMENTATION AND REAGENTS (NOT PROVIDED)

Instrumentation

- 50, 100, 500 and 1000 µL-micropipettes
- ELISA reader (450 nm)
- Centrifuge
- Ultra-Turrax, mixer, vortex
- Plastic bag to store unused microtiter strips.

Reagents

- Double distilled water
- Methanol

7. SAMPLE PREPARATION

Cereals / Meat

- Grind sample to pass through a 20 mesh sieve and thoroughly mix prior to sub-sampling.
- Suspend 20 g of sample in 100 mL of 70% methanol.
- Mix suspension for 5 minutes.
- Filter through Whatman #1 filter or alternatively centrifuge at a minimum of 3000 g for 5 minutes.
- Dilute 100 µL of filtrate/supernatant with 600 µL of sample diluent and test the sample in the ELISA.

Beer / Gyle / Milk

- Dilute an adequate volume of sample diluent with 10% methanol.
- Carbonized beer samples should be preliminarily degassed by moderate heating.
- Cloudy beers (such as beer brewed from wheat) / gyle should preliminarily be sterile-filtered.
- Degrease whole milk samples by centrifugation
- Dilute 100 µL of sample with 900 µL sample diluent/methanol dilution.
- In case of too high concentrated samples, an adequate volume of sample diluent is diluted with 10% methanol. The sample extracts have to be further diluted with this dilution.

8. PROCEDURE

1. Prepare samples as described above.
2. Pipet 100 μL standards or prepared samples in duplicate into the appropriate wells of the microtiter plate. Immediately add 50 μL T-2 Toxin-peroxidase conjugate and 50 μL anti-T-2 Toxin antibody into each well (consider sequence!).
3. Incubate for 10 minutes at room temperature.
4. Wash the plate three times as follows: Discard the contents of the wells (dump or aspirate). Pipet 300 μL of diluted washing solution into each well. After the third repetition empty the wells again and remove residual liquid by striking the plate against a paper towel. The wash procedure is critical. Insufficient washing will result in poor precision and falsely elevated absorbencies.
5. Pipet 100 μL of substrate solution into each well.
6. Allow the reaction to develop in the dark (e.g. cupboard or drawer; the chromogen is light-sensitive) for 10 minutes at room temperature.
7. Stop enzyme reaction by adding 100 μL of stop solution (0.5 M H_2SO_4) into each well. The blue colour will turn yellow upon addition.
8. After thorough mixing, measure absorbance at 450 nm (reference wavelength 620 nm), using an ELISA reader. The colour is stable for 30 minutes.

9. CALCULATION OF RESULTS

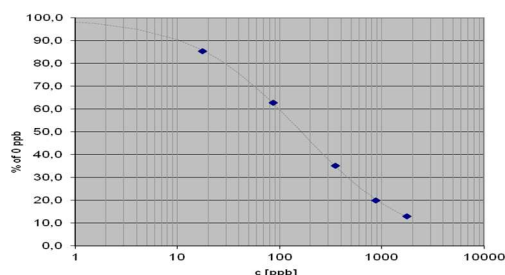
The ready-to-use standards are prepared for a direct determination of the sample concentrations. The dilution of samples in the extraction process as described in the above stated sample preparation procedure is already considered. Additional dilution due to high sample concentration has to be accounted for.

1. Calculate the average optical density (OD 450 nm) for each set of reference standards or samples.
2. Construct a standard curve by plotting the mean optical density obtained for each reference standard against its concentration in ppm on semi-log graph paper with the optical density on the vertical (y) axis and the concentration on the horizontal (x) axis. Alternatively the evaluation can be carried out by software. In this case the 4-parameter method should be preferred.
3. Using the mean optical density (OD) value for each sample, determine the corresponding concentration of fumonisin in ppm from the standard curve. Depending on experience and/or the availability of computer capability, other methods of data reduction may be employed.
4. Due to a deviating sample preparation process the results for Beer / Gyle / Milk samples additionally have to be multiplied with 0.286 in order to get the real concentration of the sample.

10. TYPICAL STANDARD VALUES

The following table contains an example for a typical standard curve. The binding is calculated as percent of the absorption of the 0 ppb standard. These values are only an example and should not be used instead of the standard curve which has to be measured in each new test.

T-2 Toxin (ppb)	% binding of 0 ppb
0	100
17.5	85
87.5	62
350	35
875	20
1750	13



11. PERFORMANCE

Sensitivity

The limit of detection (LOD) of the **Demeditec T2 Toxin ELISA test** is 13 ppb. Validation experiments with common matrices resulted in the following LODs [ppb].

Wheat	10
Rye	11
Barley	16
Corn	14
Rice	11
Meat (pork)	8
Milk	5
Beer	5

The limit of quantification (LOQ) of the **Demeditec T2 Toxin ELISA test** is 17.5 ppb. Due to the variety of sample matrices and their influence on the blank, results less than the LOQ should be treated as negative.

Recovery

Wheat	100%
Barley	96%
Rye	103%
Oats	97%
Rice	95%
Corn	92%
Meat	97%
Beer	105%
Milk	95%

Linearity

The serial dilution of spiked samples (wheat, rice, corn, rye, barley, meat, beer, milk) resulted in a dilution linearity of 84-111%.

Precision

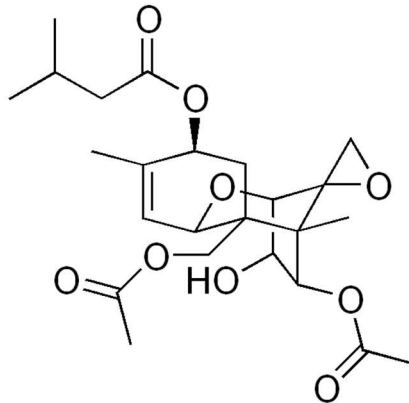
Intra-assay Precision	3-4%
Inter-assay Precision	3-6%

Cross-reactivity

Cross-reactivity	relative to T-2 Toxin (=100%)
HT-2 Toxin	3.0%
T-2 Triol	0.35%
T-2 Tetraol	0.07%

Empfindlichkeit	5 - 16 ppb
Wiederfindung (aufgestockte Proben)	92-105%
Inkubationszeit	20 min

1. ALLGEMEINES



T-2 Toxin gehört neben Deoxynivalenol, Zearalenon, den Fumonisin und anderen Trichothecenen zu den Fusarientoxinen, die bereits auf dem Feld durch den Befall der Getreidepflanze mit Fusarien-Pilzen gebildet werden. Akut toxische Dosen können Gastroenteritis über Beschädigung des Knochenmarks bis zu Nekrosen im Haut- und Atemwegsbereich verursachen.

T-2 Toxin besitzt eine hohe Temperaturstabilität und kann daher auch in Backwaren noch nachgewiesen werden. In Russland hat der Gesetzgeber bereits Grenzwerte zwischen 50 und 100 ppb festgelegt. Die Einführung von Grenzwerten in der Europäischen Union wird seit Jahren diskutiert. Eine Überwachung der Lebens- bzw. Futtermittel bezüglich des T-2 Toxin-Gehalts ist somit zunehmend erforderlich.

Der **Demeditec T2 Toxin ELISA** stellt ein hochsensibles Nachweissystem dar und ist insbesondere zur schnellen Quantifizierung von T-2 Toxin Rückständen in Getreide, Bier, Milch und Fleisch geeignet.

2. TESTPRINZIP

Der **Demeditec T2 Toxin ELISA Test** basiert auf dem Prinzip des Enzymimmunoassay (EIA). Ein Antikörper-bindendes Protein ist auf der Oberfläche der Mikrotiterplatte gebunden. Darauf wird die T-2 Toxin enthaltende Probe bzw. Standards, ein T-2 Toxin-Enzymkonjugat, sowie ein T-2 Toxin-Antikörper in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte gegeben. Es findet eine Konkurrenz zwischen markiertem und unmarkiertem T-2 Toxin um die limitierten Antikörperbindungsstellen statt. Gleichzeitig wird der anti-T-2 Toxin Antikörper an die mit Antikörper-bindendem Protein beschichtete Mikrotiterplatte gebunden. Nach einer 10-minütigen Inkubation bei Raumtemperatur wird die Platte mit verdünntem Waschpuffer gewaschen, um nicht gebundenes Material zu entfernen. Eine Substratlösung wird hinzu pipettiert und 10 Minuten inkubiert, wodurch in den Vertiefungen ein blauer Farbstoff entwickelt wird. Die Farbentwicklung wird durch Zugabe einer Stopp-Lösung beendet, wobei ein Farbumschlag von blau nach gelb stattfindet. Die resultierende Farbe wird spektrophotometrisch bei 450 nm gemessen. Die T-2 Toxin-Konzentration ist der Intensität der Färbung umgekehrt proportional.

3. VORSICHTSMAßNAHMEN

Die volle Übereinstimmung mit den folgenden Regeln für eine gute Laborpraxis (GLP) wird zu vertrauenswürdigen Ergebnissen führen:

1. Vor der Testdurchführung müssen alle Reagenzien auf Raumtemperatur gebracht werden (20°C-25°C).
2. Alle Reagenzien sollten vor der Verwendung durch leichtes Kippen oder Schwenken gemischt werden. Die Erzeugung von Schaum sollte dabei vermieden werden.
3. Wenn mit der Testdurchführung einmal begonnen ist, sollten alle nachfolgenden Schritte ohne Unterbrechung und innerhalb der empfohlenen Zeitgrenzen vollzogen werden.
4. Unmittelbar nach Entnahme der Reagenzien sollten die Flaschen wieder mit ihren Stopfen verschlossen werden. Die Verschlüsse dürfen nicht verwechselt werden!
5. Für jede Probe muss eine separate Einmal-Pipettenspitze verwendet werden, um eine Verschleppung bzw. Kreuzkontamination zu vermeiden.
6. Alle Proben und Standards sollten gleichzeitig getestet werden, so dass die Bedingungen für alle identisch sind.
7. Komponenten von verschiedenen Chargen dürfen nicht verwendet oder gemischt werden.
8. Reagenzien dürfen nach der Verfallszeit nicht benutzt werden.
9. Es sollten ständig die Präzision und die Richtigkeit für die Laborgeräte kontrolliert werden, die man für das Testverfahren benutzt (Mikropipetten, Washer, ELISA-Reader, etc.).

4. GESUNDHEITS- UND SICHERHEITSVORSCHRIFTEN

1. Im Laboratorium darf nicht geraucht, gegessen und getrunken werden. Das Pipettieren mit dem Mund ist nicht zulässig.
2. Der Kontakt der Stopp-Lösung mit Haut und Schleimhäuten sollte vermieden werden, da mögliche Reizungen, Verbrennungen oder Vergiftungen auftreten können. Sollte ein Kontakt entstehen, muss der betroffene Bereich mit ausreichend Wasser abgespült werden.
3. Die Handhabung und die Beseitigung von chemischen Produkten muss nach den Richtlinien für eine gute Laborpraxis (GLP) erfolgen.

5. REAGENZIEN

Der Kit enthält Reagenzien für 96 Bestimmungen. Sie müssen bei 2-8°C gelagert werden. Das Verfallsdatum ist auf jeder Komponente sowie auf der Verpackung angegeben.

1. **SORB** **MT** Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten (12 Streifen mit je 8 Vertiefungen, einzeln abbrechbar), beschichtet mit Antikörper-bindendem Protein.
2. **CAL** **1** – **6** T-2 Toxin-Standards: 6 Fläschchen mit je 1 mL (0; 17,5; 87,5; 350; 875; 1750 ppb), in Methanol, rot eingefärbt, gebrauchsfertig. Aufgrund der Gesamtverdünnung von 1:35 durch den Extraktionsprozess enthalten die Standards jeweils 1/35 der angegebenen Konzentration. Weitere Berechnung nach der Analyse ist somit nicht nötig.
3. **Ab** Anti-T-2 Toxin Antikörper (Kaninchen): 6 mL, blau eingefärbt, gebrauchsfertig.
4. **ENZ** **CONJ** Konjugat (T-2 Toxin-Peroxidase), 6 mL, rot eingefärbt, gebrauchsfertig.
5. **SUB** **TMB** Substratlösung (TMB), 15 mL, gebrauchsfertig.
6. **STOP** **SOLN** Stopp-Lösung (0,5 M H₂SO₄), 15 mL, gebrauchsfertig.
7. **SAM** **DIL** Probenverdünner (PBS), 2 x 60 mL, rot eingefärbt, gebrauchsfertig.
8. **WASH** **SOLN** **10x** Waschlösung (PBS + Tween 20), 60 mL als 10x-Konzentrat. Gebrauchslösung: 1+9 mit dest. Wasser verdünnen. Falls bei der gekühlten Lagerung Kristalle ausfallen sollten, das Konzentrat 15 Minuten im Wasserbad (37°C) erwärmen.
9. Arbeitsanleitung.

6. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE GERÄTE UND REAGENZIEN

Geräte

- 50, 100, 500 und 1000 µL-Mikropipetten
- Mikrotiterplatten-Photometer (450 nm)
- Zentrifuge
- Ultra-Turrax, Mixer, Vortex
- Ein wiederverschließbarer Plastikbeutel für die Lagerung unbenutzter Streifen.

Reagenzien

- Methanol
- Bidest. Wasser

7. PROBENVORBEREITUNG

Getreide / Fleisch

- Probe zermahlen und durch 20 mesh Porenweite sieben.
- 20 g der Probe in 100 mL 70% Methanol suspendieren.
- Suspension 5 min schütteln.
- Extrakt durch Whatman #1 Filter filtrieren oder alternativ 5 min bei mindestens 3000 g zentrifugieren.
- 100 µL Filtrat / überständige Lösung mit 600 µL Probenverdünner verdünnen und im ELISA einsetzen.

Bier / Würze / Milch

- Eine adäquate Menge Probenverdünner mit 10% Methanol versetzen.
- Kohlensäure-haltige Bierproben zuvor durch leichtes Erwärmen entgasen.
- Trübe Biere (z.B. Hefeweizen) / Würze zuvor steril filtrieren.
- Vollmilchproben zuvor durch Zentrifugation entfetten.
- 100 µL der Probe mit 900 µL Probenverdünner-Methanol-Lösung verdünnen.

Im Fall einer zu hoch konzentrierten Probe, wird eine adäquate Menge Probenverdünner mit 10% Methanol versetzt. Die zuvor hergestellten Extrakte werden mit dieser Lösung verdünnt.

8. TESTDURCHFÜHRUNG

1. Proben nach Vorschrift vorbereiten.
2. 100 µL Standards bzw. vorbehandelte Proben im Doppelansatz in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte geben. Sofort im Anschluss in jede Vertiefung 50 µL des T-2 Toxin-Peroxidase-Konjugates und 50 µL des anti-T-2 Toxin Antikörpers pipettieren (Reihenfolge beachten!).
3. Platte für 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
4. Platte wie folgt dreimal waschen: Vertiefungen der Platte entleeren (auskippen oder absaugen) und 300 µL endverdünnte Waschlösung dazugeben. Nach der dritten Wiederholung Vertiefungen erneut leeren und Flüssigkeitsreste durch Ausschlagen der Mikrotiterplatte auf einem Papiertuch entfernen. Der Waschvorgang ist ein kritischer Schritt. Ungenügendes Waschen führt zu einer geringen Präzision und fälschlicherweise erhöhten Extinktionen.
5. 100 µL Substratlösung zugeben.
6. Platte abdecken und 10 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren.
7. Substratreaktion durch Zugabe von 100 µL Stopp-Lösung (0,5 M H₂SO₄) beenden.
8. Nach sorgfältigem Mischen erfolgt die Messung der Extinktion bei 450 nm (eventuell Referenzwellenlänge 620 nm). Die Farbe ist maximal 30 Minuten stabil.

9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

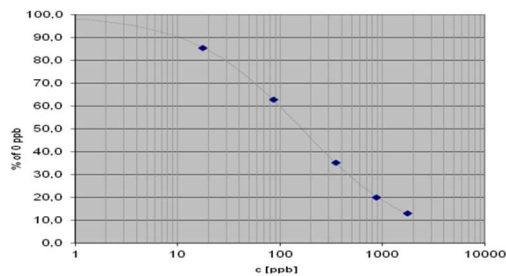
Die gebrauchsfertigen Standards sind für eine direkte Bestimmung der Proben-Konzentration vorbereitet. Die Probenverdünnung, bedingt durch den oben beschriebenen Extraktionsprozess, ist bereits berücksichtigt. Zusätzliche Verdünnung aufgrund sehr hoher Probenkonzentration muss berücksichtigt werden.

1. Für jede Probe bzw. jeden Standard wird die gemittelte Extinktion berechnet.
2. Aus den gemittelten Werten der Standardreihe wird graphisch auf halblogarithmischem Millimeterpapier oder über ein EDV-Programm (4-Parameter-Auswertung) eine Eichkurve erstellt. Die Extinktion jedes Standards (y-Achse) wird gegen die Konzentration in ppm (x-Achse) aufgetragen.
3. Mit Hilfe dieser Kurve wird für die gemittelten Extinktionen der Proben der Wert in ppm für Fumonisin abgelesen.
4. Aufgrund des abweichenden Extraktionsprozesses müssen die Ergebnisse von Bier / Würze / Milch zusätzlich mit dem Faktor 0,286 multipliziert werden, um die tatsächliche Probenkonzentration zu erhalten.

10. TYPISCHE STANDARDKURVE

Die folgende Tabelle enthält ein Beispiel für eine Standardreihe. Die Extinktionen sind in Prozent der Extinktion des 0 ppb-Standards angegeben. Die Werte dieser Standardkurve sind nur als Beispiel bestimmt und dürfen nicht an Stelle der in jedem Test neu zu erstellenden Kurve verwendet werden.

T-2 Toxin (ppb)	OD-% von 0 ppb
0	100
17.5	85
87.5	62
350	35
875	20
1750	13



11. TECHNISCHE DATEN

Empfindlichkeit

Die mittlere untere Nachweisgrenze des **Demeditec T2 Toxin ELISA Tests** beträgt 13 ppb. Validierungsexperimente mit gebräuchlichen Matrices resultierten in folgenden unteren Nachweisgrenzen [ppb].

Weizen	10
Roggen	11
Gerste	16
Mais	14
Reis	11
Fleisch (Schwein)	8
Milch	5
Bier	5

Die untere Bestimmungsgrenze des **Demeditec T2 Toxin ELISA Tests** beträgt 17,5 ppb. Proben mit Ergebnissen kleiner der Bestimmungsgrenze sollten aufgrund der Vielfalt an Matrices und deren Einfluss auf den Hintergrund als negativ bewertet werden.

Wiederfindung

Weizen	100%
--------	------

Gerste	96%
Roggen	103%
Hafer	97%
Reis	95%
Mais	92%
Fleisch	97%
Bier	105%
Milch	95%

Linearität

Die schrittweise Verdünnung dotierter Proben über vier Stufen (Weizen, Reis, Mais, Roggen, Gerste, Fleisch, Bier, Milch) ergab Verdünnungslinearitäten von 84-111%.

Präzision

Intra-Assay Präzision	3-4%
Inter-Assay Präzision	3-6%














Kreuzreaktionen

Kreuzreaktionen	relativ zu T-2 Toxin(=100%)
HT-2 Toxin	3,0%
T-2 Triol	0,35%
T-2 Tetraol	0,07%

12. REFERENCES / LITERATUR

1. Schwake-Anduschus C, et al. (2010) – Occurrence of Fusarium T-2 and HT-2 toxins in oats from cultivar studies in Germany and degradation of the toxins during grain cleaning treatment and food processing. *Food Addit Contam*, 27(9):1253-60
2. Kankkunen P, et al. (2009) – Trichothecene mycotoxins activate inflammatory response in human macrophages. *J Immunol*, 182(10):6418-25
3. Yoshizawa T, et al. (2004) – A practical method for measuring Deoxynivalenol, Nivalenol, and T-2 + HT-2 Toxin in foods by an enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies. *Biosc Biot Biochem*, 68(10):2076-85
4. Chu F S, et al. (1986) – Improved method for production of antibodies against t-2 toxin and diacetoxyscirpenol in rabbits. *Appl Env Microb*, 51(1):132-37
5. Ohtani K, et al. (1988) – Improved preparation of T-2 toxin-protein conjugates. *Toxicon*, 26(11):1107-11
6. Katja Bernhardine (2008) – Entwicklung und Validierung von Enzymimmuntests zum Nachweis von T-2 Toxin und HT-2 Toxin sowie Vorkommen dieser Mykotoxine in Lebensmitteln des deutschen Marktes. Dissertation, Tierärztliche Fakultät München
7. Suproniene S, et al. (2010) – Distribution of trichothecene and zearalenone producing fusarium species in grain of different cereal species and cultivars grown under organic farming conditions in Lithuania. *Ann Agric Environ Med*, 17:79-86
8. Barthel J, et al. (2012) – Occurrence of type A, B and D trichothecenes in barley and barley products from the Bavarian market. *Mycotoxin Res*, 28(2)_97-106

SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS

Symbol	English	Deutsch	Française	Espanol	Italiano
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las Instrucciones	Consultare le istruzioni per l'uso
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	utilisation Diagnostic in vitro	Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Référence	Número de catálogo	No. di catalogo
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	No. de lot	Número de lote	Lotto no
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Note warnings and precautions	Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen beachten	Avertissements et mesures de précaution font attention	Tiene en cuenta advertencias y precauciones	Annoti avvisi e le precauzioni
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Température de conservation	Temperatura de conservacion	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributed by	Vertrieb durch	Distribution par	Distribución por	Distribuzione da parte di
	Version	Version	Version	Versión	Versione
	Single-use	Einmalverwendung	À usage unique	Uso único	Uso una volta