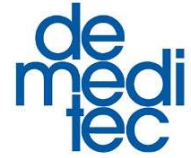


Product information

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



Aflatoxin total ELISA

REF

DEAFTE01



96



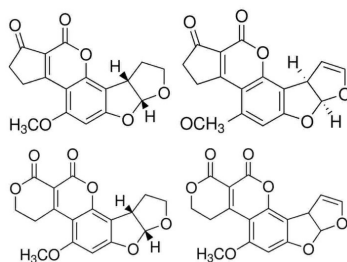
Demeditec Diagnostics GmbH
Lise-Meitner-Strasse 2
24145 Kiel – Germany
www.demeditec.com

TABLE OF CONTENTS / INHALTSVERZEICHNIS

1. GENERAL INFORMATION	3
2. PRINCIPLE OF THE TEST	3
3. PRECAUTIONS	3
4. HEALTH AND SAFETY INSTRUCTIONS	3
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	6
11. PERFORMANCE	6
1. ALLGEMEINES	8
2. TESTPRINZIP	8
3. VORSICHTSMAßNAHMEN	8
4. GESUNDHEITS- UND SICHERHEITSVORSCHRIFTEN	9
5. REAGENZIEN	9
6. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE GERÄTE UND REAGENZIEN	9
7. PROBENVORBEREITUNG	9
8. TESTDURCHFÜHRUNG	10
9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE	10
10. TYPISCHE STANDARDKURVE	11
11. TECHNISCHE DATEN	11
12. REFERENCES	12
SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS	12

Sensitivity	0.015 ng/mL
Recovery (spiked samples)	87 - 121%
Incubation Time	45 min

1. GENERAL INFORMATION



Aflatoxins belong to the class of mycotoxins. Chemically they are defined as difuranocyclopentanocumarines or difuranopentanolidocumarines, i.e. aflatoxins contain a dihydrofuran or a tetrahydrofuran ring, to which a substituted coumarin system is condensed. Out of about 20 known aflatoxins, the moulds *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* produce exclusively aflatoxin B₁, B₂, G₁ and G₂, and all the other aflatoxins are derivatives of these four. The derivatives are developed either by metabolism in humans, animals and microorganisms or by environmental reactions. In the European Union the limits for total aflatoxins are 4 – 15 ppb for food. Thus a monitoring of food and feed with respect to the concentration of aflatoxins is obligatory.

The **Demeditec Aflatoxin total ELISA** represents a highly sensitive detection system and is particularly capable of the quantification of total aflatoxin contaminations in cereals, beer, nuts, dry fruits, oils and chili.

2. PRINCIPLE OF THE TEST

The **Demeditec Aflatoxin total** 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. Aflatoxins containing samples or standards, an aflatoxin-peroxidase conjugate and an antibody directed against aflatoxins are given into the wells of the microtiter plate. The conjugate competes with the aflatoxins of samples/standards for the limited number of antibody sites. Simultaneously the anti-aflatoxin antibody is bound to the antibody-binding protein coated on the microtiter plate. After 30 minutes incubation at room temperature the wells are washed with diluted washing solution to remove unbound material. A substrate solution is added and incubated for 15 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 aflatoxins is inversely 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** Aflatoxin Standards (0; 0.05; 0.1; 0.25; 0.5; 1.5 ng/mL): 6 vials with 1 mL each, in methanol, dyed red, ready-to-use.
3. **Ab** Anti-Aflatoxin Antibody (mouse): 6 mL, dyed blue, ready-to-use.
4. **ENZ** **CONJ** Conjugate (Aflatoxin-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 and 100 µL- micropipettes
- ELISA reader (450 nm)
- Centrifuge
- Ultra-Turrax, mixer, vortex
- Plastic bag to store unused microtiter strips.

Reagents

- Double distilled water
- Methanol
- Hexan (Spices only)

7. SAMPLE PREPARATION

Solid Samples (Cereals, Nuts, Dry Fruit)

- 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. *Dilution factor = 35*

Spices

- 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.
- To 1 mL of filtrate add 2 mL of Hexan and mix for 5 min, then separate the upper hexan layer.
- Dilute 100 µL of the lower layer with 600 µL of sample diluent and test the sample in the ELISA. *Dilution factor = 35*

Liquid Samples (Beer)

- Depending on the number of samples dilute an adequate volume of sample diluent with 10% methanol.

- Carbonized samples should be preliminarily degassed by moderate heating.
- Cloudy samples (such as beer brewed from wheat) / gyle should preliminarily be sterile-filtered.
- Dilute 100 µL sample with 900 µL sample diluents/methanol dilution and test the diluted sample in the ELISA.
Dilution factor = 10

Oil Samples

- Dilute 20 mL of oil with 100 mL of 70% methanol and mix for 5 min in a separating funnel.
- Discard the oil layer.
- Dilute 100 µL of the methanol layer with 600 µL of sample diluent and test the sample in the ELISA. *Dilution factor = 35*

In case of too highly concentrated samples, an adequate volume of sample diluent is diluted with methanol to a concentration of 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.
3. Add 50 µL of aflatoxin-peroxidase conjugate into each well.
4. Add 50 µL of anti-aflatoxin antibody into each well.
5. Incubate for 30 minutes at room temperature.
6. 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 absorbances.
7. Pipet 100 µL of substrate solution into each well.
8. Allow the reaction to develop in the dark (e.g. cupboard or drawer; the chromogen is light-sensitive) for 15 minutes at room temperature.
9. Stop enzyme reaction by adding 100 µL of stop solution (0.5 M H₂SO₄) into each well. The blue colour will turn yellow upon addition.
10. 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

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 ng/mL 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. The diluted samples must be further converted by the appropriate **sample dilution factor** for calculating the sample concentration in ppb. The factors for each sample matrix are listed in the *sample preparation* section.

Example:

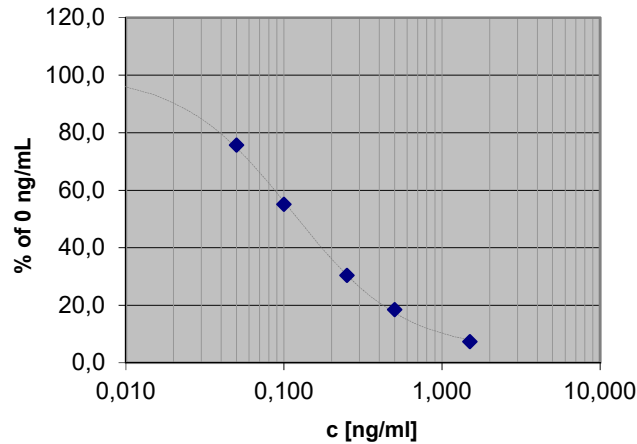
A wheat sample prepared as described above results in 0.2 ng/mL. The concentration of the sample is calculated as follows:

$$C_{\text{sample}} = 0.2 \text{ (ng/mL)} * 35 \text{ (ppb*ml/ng)} = 7 \text{ ppb}$$

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 ng/mL 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.

Aflatoxin (ng/mL)	(% binding of 0 ng/mL)
0	100
0.05	74
0.1	63
0.25	32
0.5	21
1.5	6



11. PERFORMANCE

Sensitivity

The limit of detection (LOD) of the **Aflatoxin Total test** is 0.015 ng/mL for the standard curve. The limit of quantification (LOQ) of the **Aflatoxin Total test** is 0.046 ng/mL for the standard curve. Validation experiments with common matrices resulted in the following LODs and LOQs [ppb].

Matrix	LOD	LOQ
Wheat	0.9	1.9
Rye	0.8	1.8
Barley	0.7	2.1
Oats	0.8	1.7
Sorghum	1.3	2.0
Rice	0.9	2.3
Corn	1.1	2.5
Beer	0.4	0.7

Matrix	LOD	LOQ
Hazelnut	1.4	2.6
Peanut	0.9	3.0
Almond	1.2	2.4
Dry Fruit – Sultana	2.8	3.9
Dry Fruit – Fig	1.2	2.4
Chili	3.0	4.4
Oil	0.4	1.4

Recovery

Wheat	99%
Rye	92%
Barley	92%
Oats	85%
Sorghum	101%
Rice	102%
Corn	92%
Beer	101%

Hazelnut	87%
Peanut	101%
Almond	93%
Dry Fruit - Sultana	103%
Dry Fruit - Fig	114%
Chili	92%
Oil	121%

Linearity

The serial dilution of spiked samples (as seen in the table above) resulted in a dilution linearity of 91-119%.

Precision

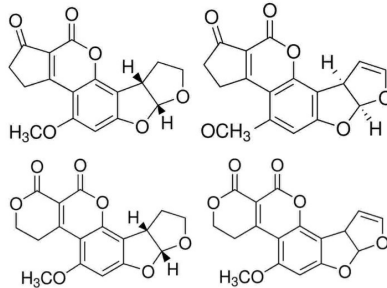
Intra-assay Precision	4.7%
Inter-assay Precision	6.6%

Reactivity

Aflatoxin B ₁	100%
Aflatoxin B ₂	73%
Aflatoxin G ₁	74%
Aflatoxin G ₂	49%
Aflatoxin M ₁	60%

Empfindlichkeit	0,015 ng/mL
Wiederfindung (aufgestockte Proben)	87 - 121%
Inkubationszeit	45 min

1. ALLGEMEINES



Aflatoxine gehören zur Klasse der Mykotoxine. Chemisch handelt es sich um Difuranocyclopentanocoumarine oder Difuranopentanolidocoumarine, d.h. die Aflatoxine bestehen aus einem Dihydro- bzw. Tetrahydrofuranring, an den ein substituiertes Coumarinsystem ankondensiert ist. Von den etwa 20 bekannten Aflatoxinen werden ausschließlich B₁, B₂, G₁ und G₂ von den Schimmelpilzen *Aspergillus flavus* und *A. parasiticus* produziert, während es sich bei allen anderen Aflatoxinen um Metabolite dieser vier handelt. Die Metabolite werden von Menschen, Tieren, Mikroorganismen oder durch Umwelteinflüsse gebildet. In der EU gelten Grenzwerte von 4 - 15 ppb für Gesamt-Aflatoxine in Nahrungsmitteln. Eine Überwachung der Lebens- bzw. Futtermittel bezüglich des Aflatoxin-Gehalts ist somit zwingend erforderlich.

Der **Demeditec Aflatoxin total ELISA** stellt ein hochempfindliches Nachweissystem dar und ist insbesondere zur schnellen Quantifizierung von Gesamtaflatoxin in Getreide, Bier, Nüssen, Trockenobst, Ölen und Chili geeignet.

2. TESTPRINZIP

Der **Demeditec Aflatoxin total** Test basiert auf dem Prinzip des Enzymimmunoassay (EIA). Ein Antikörper-bindendes Protein ist auf der Oberfläche der Mikrotiterplatte gebunden. Darauf wird die Aflatoxine enthaltende Probe bzw. Standards, sowie ein Aflatoxin-Peroxidase-Konjugat und ein gegen Aflatoxine gerichteter Antikörper in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte gegeben. Es findet eine Konkurrenz zwischen markierten und unmarkierten Aflatoxinen um die limitierten Antikörperbindungsstellen statt. Gleichzeitig wird der anti-Aflatoxin Antikörper an das Antikörper-bindende Protein auf der Mikrotiterplatte gebunden. Nach einer 30-minütigen Inkubation bei Raumtemperatur wird die Platte mit verdünntem Waschpuffer gewaschen, um nicht-gebundenes Material zu entfernen. Eine Substratlösung wird hinzu pipettiert und 15 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 Aflatoxin-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 Vergiftungsgefahr 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** Aflatoxin-Standards: 6 Fläschchen mit je 1 mL (0; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1,5 ng/mL), in Methanol, rot eingefärbt, gebrauchsfertig.
3. **Ab** Anti-Aflatoxin Antikörper (Maus): 6 mL, blau eingefärbt, gebrauchsfertig.
4. **ENZ CONJ** Konjugat (Aflatoxin-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 und 100 µL-Mikropipetten
- Mikrotiterplatten-Photometer (450 nm)
- Zentrifuge
- Ultra-Turrax, Mixer, Vortex
- Wiederverschließbarer Plastikbeutel für die Lagerung unbenutzter Streifen.

Reagenzien

- Bidest. Wasser
- Methanol
- Hexan (nur für Gewürze)

7. PROBENVORBEREITUNG

Feste Proben (Getreide, Nüsse, Trockenobst)

- 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. *Verdünnungsfaktor = 35*

Gewürze

- 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.
- Zu 1 mL Filtrat 2 mL Hexan zugeben und 5 min schütteln, dann die obere Hexan-Phase abtrennen.
- 100 µL der unteren wässrigen Phase mit 600 µL Probenverdünner verdünnen und im ELISA einsetzen. *Verdünnungsfaktor = 35*

Flüssige Proben (Bier)

- In Abhängigkeit von der Probenanzahl eine adäquate Menge Probenverdünner mit 10% Methanol versetzen (z.B. 1 mL Methanol + 9 mL Probenverdünner).
- Kohlensäurehaltige Bierproben zuvor durch leichtes Erwärmen entgasen.
- Trübe Biere (z.B. Hefeweizen) / Würze zuvor steril filtrieren.
- 100 µL Bier / Würze mit 900 µL Probenverdünner-Methanol-Lösung verdünnen.
Verdünnungsfaktor = 10

Öl Proben

- 20 mL des Öls mit 100 mL 70% Methanol für 5 min im Scheidetrichter suspendieren.
- Obere Öl-Phase verwerfen
- 100 µL der Methanol-Phase mit 600 µL Probenverdünner verdünnen und im ELISA einsetzen.
Verdünnungsfaktor = 35

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.
3. 50 µL des Aflatoxin-Peroxidase Konjugats in die Vertiefungen pipettieren.
4. 50 µL des Anti-Aflatoxin-Antikörpers in die Vertiefungen pipettieren.
5. Platte für 30 min bei Raumtemperatur inkubieren.
6. 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.
7. 100 µL Substratlösung zugeben.
8. Platte für 15 min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren.
9. Substratreaktion durch Zugabe von 100 µL Stopp-Lösung (0,5 M H₂SO₄) beenden.
10. Nach sorgfältigem Mischen erfolgt die Messung der Extinktion bei 450 nm (eventuell Referenzwellenlänge 620 nm). Die Farbe ist maximal 30 Minuten stabil.

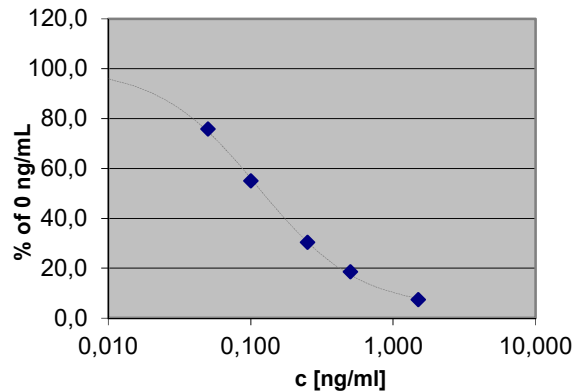
9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

1. Für jede Probe bzw. jeden Standard wird die gemittelte Extinktion (OD 450 nm) 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 ng/mL (x-Achse) aufgetragen.
3. Die Ergebnisse der verdünnten Proben müssen mit dem entsprechenden Probenverdünnungsfaktor multipliziert werden, um den tatsächlichen Gehalt der Probe in ppb zu erhalten. Die Probenverdünnungsfaktoren sind im Abschnitt *Probenvorbereitung* aufgelistet.
Beispiel: Ein Weizenextrakt, welcher wie oben beschrieben hergestellt wurde, resultiert mit einem Testergebnis von 0,2 ng/mL. Die Konzentration der Probe wird wie folgt berechnet:
4. $C_{\text{Probe}} = 0,2 \text{ (ng/mL)} * 35 \text{ (ppb*ml/ng)} = 7 \text{ ppb}$

10. TYPISCHE STANDARDKURVE

Die folgende Tabelle enthält ein Beispiel für eine Standardreihe. Die Extinktionen sind in Prozent der Extinktion des 0 ppm-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.

Aflatoxin (ng/mL)	(OD-% von 0 ng/mL)
0	100
0,05	74
0,1	63
0,25	32
0,5	21
1,5	6



11. TECHNISCHE DATEN

Empfindlichkeit

Die mittlere untere Nachweisgrenze (LOD) des **Aflatoxin Total Tests** beträgt 0,015 ng/mL.

Die mittlere untere Quantifizierungsgrenze (LOQ) des **Aflatoxin Total Tests** beträgt 0,046 ng/mL.

Validierungsexperimente mit gebräuchlichen Matrices resultierten in folgenden LODs und LOQs [ppb].

Matrix	LOD	LOQ	Matrix	LOD	LOQ
Weizen	0,9	1,9	Haselnuss	1,4	2,6
Roggen	0,8	1,8	Erdnuss	0,9	3,0
Gerste	0,7	2,1	Mandel	1,2	2,4
Hafer	0,8	1,7	Trockenobst - Sultanine	2,8	3,9
Sorghum	1,3	2,0	Trockenobst - Feige	1,2	2,4
Reis	0,9	2,3	Chili	3,0	4,4
Mais	1,1	2,5	Öl	0,4	1,4
Bier	0,4	0,7			

Wiederfindung

Weizen	99%	Haselnuss	98%
Roggen	92%	Erdnuss	101%
Gerste	92%	Mandel	93%
Hafer	85%	Trockenobst - Sultanine	103%
Sorghum	101%	Trockenobst - Feige	114%
Reis	102%	Chili	92%
Mais	92%	Öl	121%
Bier	101%		

Linearität

Die schrittweise Verdünnung dotierter Proben (wie in obenstehender Tabelle aufgeführt) ergab Verdünnungslinearitäten von 91-119%.

Präzision

Intra-Assay Präzision	4,7%
Inter-Assay Präzision	6,6%














Reaktivität

Aflatoxin B ₁	100%
Aflatoxin B ₂	73%
Aflatoxin G ₁	74%
Aflatoxin G ₂	49%
Aflatoxin M ₁	60%

12. REFERENCES

1. Nanju L, et al. (2004) – A rapid aflatoxin B₁ ELISA: Development and validation with reduced matrix effects for peanuts, corn, pistachio and soybeans. J Agric Food Chem, 52(10):2746-2755
2. Cervino C, et al. (2007) – Novel aflatoxin derivatives and protein conjugates. Molecules, 12:641-653
3. Siah SMR, et al. (2012) – Determination of aflatoxins in nuts of Tabriz confectionaries by ELISA and HPLC methods. Adv Pharm Bull, 2(1):123-126
4. Tsung-Che T, et al. (1992) – Preparation and characterization of a monoclonal antibody against aflatoxins B₁, B₂, G₁, G₂. Bot Bull Acad Sin, 33:369-374
5. Zhang D, et al (2009) – Production of ultrasensitive generic monoclonal antibodies against major aflatoxins using a modified two-step screening procedure. Anal Chim Acta, 636(1):63-69

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 conservación	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