

Product information

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



Ochratoxin A ELISA

REF DEOTAE03



96



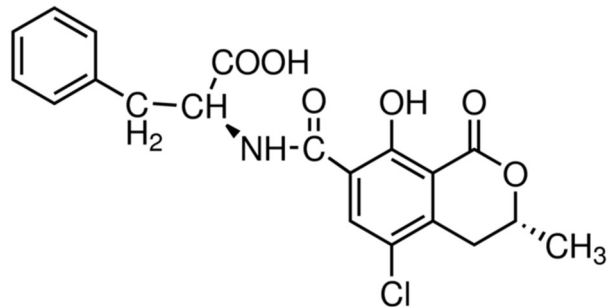
Demeditec Diagnostics GmbH
Lise-Meitner-Strasse 2
24145 Kiel – Germany
www.demeditec.com

CONTENTS/ INHALTSVERZEICHNIS

1. GENERAL INFORMATION	3
2. PRINCIPLE OF THE TEST	3
3. PRECAUTIONS	4
4. HEALTH AND SAFETY INSTRUCTIONS	4
5. REAGENTS	4
6. ADDITIONAL INSTRUMENTATION AND REAGENTS (NOT PROVIDED)	5
7. SAMPLE PREPARATION	5
8. PROCEDURE	6
9. CALCULATION OF RESULTS	6
10. TYPICAL STANDARD VALUES	7
11. PERFORMANCE	8
12. REFERENCES	9
1. ALLGEMEINES	10
2. TESTPRINZIP	10
3. VORSICHTSMAßNAHMEN	11
4. GESUNDHEITS- UND SICHERHEITSVORSCHRIFTEN	11
5. REAGENZIEN	11
6. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE GERÄTE UND REAGENZIEN	12
7. PROBENVORBEREITUNG	12
8. TESTDURCHFÜHRUNG	13
9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE	13
10. TYPISCHE STANDARDKURVE	14
11. TECHNISCHE DATEN	15
SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS	16

Sensitivity	0.1 – 1.6 ppb
Recovery (spiked samples)	96 - 107%
Incubation Time	15 min

1. GENERAL INFORMATION



Ochratoxins belong to the group of mycotoxines. They are produced by various fungi types of the species *Aspergillus* and *Penicillium*. From six known ochratoxins, ochratoxin A (OTA) shows the highest toxicity. Ochratoxins are hepatotoxic and nephrotoxic, inhibit mitochondrial transporter systems and the synthesis of proteins in prokaryotic and eukaryotic cells. Ochratoxins occur specially on grains and grain products. After having used contaminated barley in the beer brewing process up to 40 % of the toxin is found in the beer.

In the European Union the limits for ochratoxin A are 2 – 80 ppb for regular food products. Thus a monitoring of food and feed with respect to the concentration of ochratoxin A is obligatory.

The **Ochratoxin A ELISA** represents a highly sensitive detection system and is particularly capable of the rapid quantification of ochratoxin A contaminations in cereals, beer and wine.

2. PRINCIPLE OF THE TEST

The **Ochratoxin A** 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. Ochratoxin A containing samples or standards, an ochratoxin-peroxidase conjugate and an antibody directed against ochratoxin A are given into the wells of the microtiter plate. The conjugate competes with the ochratoxin A of samples/standards for the limited number of antibody sites. Simultaneously the anti-ochratoxin antibody is bound to the antibody-binding protein coated on the microtiter plate. After 10 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 5 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 ochratoxin A 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 (micro-pipets, 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 anti-body-binding protein.
2. **CAL** **1** – **6** Ochratoxin A Standards (0; 2; 5; 10; 20; 50 ppb): 6 vials with 1 mL each, in methanol, dyed red, ready-to-use. Because of the total dilution of 1:5 of the samples in the extraction step, the calibrators contain 1/5th of the stated value. Thus no further calculation after analysis is necessary.
3. **Ab** Anti-Ochratoxin Antibody (mouse): 6 mL, dyed blue, ready-to-use.
4. **ENZ** **CONJ** Conjugate (Ochratoxin-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. **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.
8. Instruction Manual.

6. ADDITIONAL INSTRUMENTATION AND REAGENTS (NOT PROVIDED)

Instrumentation

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

Reagents

- Double distilled water
- Methanol
- Extraction Additive (DEEXSCH2) for wine samples

7. SAMPLE PREPARATION

Cereals

- Grind sample to pass through a 20 mesh sieve and thoroughly mix prior to sub-sampling.
- Suspend 20 g of sample in 50 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 500 µL of filtrate/supernatant with 500 µL of double distilled water and test the sample in the ELISA.
- If clouds appear during final dilution with double distilled water it is recommended to filter through Whatman #1 filter or alternatively centrifuge at a minimum of 3000 g for 5 minutes another time and test the filtrate/supernatant in the ELISA

Beer / Gyle

- Carbonized beer samples should be preliminarily degassed by moderate heating.
- Cloudy beers (such as beer brewed from wheat) / gyle should preliminarily be sterile-filtered.
- Dilute 1 mL of beer / gyle with 4 mL of 35% methanol and test the sample in the ELISA.

Wine

- Adjust the pH of an adequate volume to pH 7.0.
- Add 0.5 g of extraction additive (DEEXSCH2) to 10 mL of sample (pH 7.0) and mix suspension for 3 min.
- Filter through Whatman #1 filter or alternatively centrifuge at a minimum of 3000 g for 5 minutes.
- Dilute 1 mL of filtrate / supernatant with 4 mL of 40% methanol and test the sample in the ELISA.

Other samples

- Grind sample to pass through a 20 mesh sieve and thoroughly mix prior to sub-sampling.
- Suspend 20 g of sample in 50 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 500 µL of filtrate/supernatant with 500 µL of double distilled water.
- If clouds appear during final dilution with double distilled water it is recommended to once again filter through Whatman #1 filter or alternatively centrifuge at a minimum of 3000 g for 5 minutes.
- Adjust the pH to about 6.5.
- Test the sample in the ELISA

In case of too high concentrated samples, the sample extracts have to be further diluted with 35% methanol.

8. PROCEDURE

1. Prepare samples as described above.
2. Pipet 50 µL standards or prepared samples in duplicate into the appropriate wells of the microtiter plate.
3. Add 50 µL of ochratoxin-peroxidase conjugate into each well.
4. Add 50 µL of the anti-ochratoxin antibody into each well.
5. Incubate for 10 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 absorbencies.
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 5 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

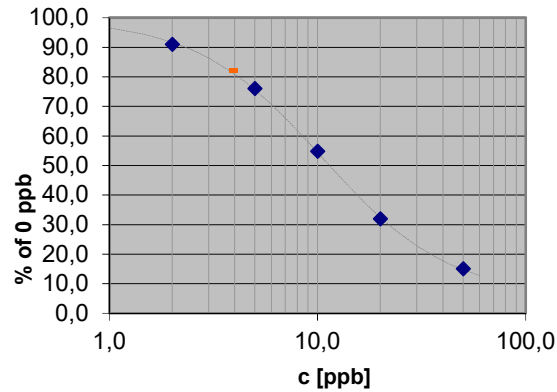
The ready-to-use standards are prepared for a direct determination of the sample concentrations. The dilution of samples in the extraction process as described in the above stated sample preparation procedure is already considered. Additional dilution due to high sample concentration has to be accounted 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 ppb 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 ochratoxin A in ppb from the standard curve. Depending on experience and / or the availability of computer capability, other methods of data reduction may be employed.

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.

Ochratoxin A (ppb)	% binding of 0 ppb
0	100
2	91
5	76
10	55
20	31
50	15



11. PERFORMANCE**Sensitivity**

The limit of detection (LOD) of the **Ochratoxin A RAPID test** is 0.8 ppb.

Validation experiments with common matrices resulted in the following LODs [ppb].

Wheat	1.1
Rye	0.6
Barley	1.0
Oats	1.6
Corn	0.9
Rice	0.1
Beer	0.7
Wine	1.0

The limit of quantification (LOQ) of the **Ochratoxin A RAPID test** is 2 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 flour	107%
Oats flour	93%
Rye flour	100%
Barley flour	103%
Rice flour	107%
Corn flour	100%
Beer	96%
Wine	102%

Linearity

The serial dilution of spiked samples (wheat, barley, rye, oats, rice, corn, beer and wine) resulted in a dilution linearity of 90-117%.

Precision

Intra-assay Precision	2-4%
Inter-assay Precision	5-9%

Cross-reactivity

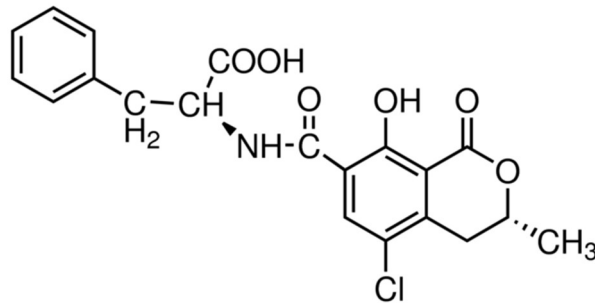
Cross-reactivity	relative to Ochratoxin A (=100%)
Ochratoxin B	7 %

12. REFERENCES

1. Beloglazova N L, et al. (2017) – Sensitive flow-through immunoassay for rapid multiplex determination of cereal-borne mycotoxins in feed and feed ingredients. *J Agric Food Chem*, 65(7):7131-7137
2. Kim S, et al. (2017) – Comparison of a new developed liquid chromatography with tandem mass spectrometry method and enzyme-linked immunosorbent assay for detection of multiple mycotoxins in red pepper powder. *J Food Prot*, 80(8): 1347-1354
3. Okuma TA, et al. (2017) – Use of enzyme-linked immunosorbent assay to screen for aflatoxins, ochratoxin A and deoxynivalenol in dry pet foods. *Mycotoxin Res*, 10.1007/s12550-017-0300-3
4. Oplatońska-Stachowiak M et al. (2017) – T2-toxin/HT-2 toxin and ochratoxin A ELISAs development and in-house validation in food in accordance with commission regulation (EU) No 519/2014. *Toxins*, 9,388; doi:10.3390/toxins9120388
5. Kaushik A, et al. (2013) – Recent advances in detection of ochratoxin A. *Open J App Biosci*, 2:1-11
6. He ZY, et al. (2013) – Ochratoxin A mimitope from second-generation peptid library and its application in immunoassay. *Anal Chem*, 85(21):10304-10311
7. Meulenber E (2012) – Immunochemical methods for ochratoxin A detection: A review. *Toxins*, 4:244-266

Empfindlichkeit	0,1 – 1,6 ppb
Wiederfindung (aufgestockte Proben)	96 - 107%
Inkubationszeit	15 min

1. ALLGEMEINES



Ochratoxine gehören zur Klasse der Mykotoxine. Sie werden von verschiedenen Pilztypen der Spezies *Aspergillus* und *Penicillium* produziert. Von sechs bekannten Ochratoxinen zeigt Ochratoxin A (OTA) die größte Toxizität. Ochratoxine sind hepatotoxisch und nephrotoxisch. Sie inhibieren das mitochondriale Transportsystem und die Proteinsynthese in prokaryontischen und eukaryontischen Zellen. Ochratoxine treten vor allem in Getreide und Getreideprodukten auf. Bei Verwendung von kontaminierter Gerste können nach dem Brauprozess noch bis zu 40% des Toxins im Bier nachgewiesen werden.

In der EU gelten Grenzwerte von 2 -80 ppb für Ochratoxin A in konventionellen Nahrungsmittel. Eine Überwachung der Lebens- bzw. Futtermittel bezüglich des Ochratoxin A-Gehalts ist somit zwingend erforderlich.

Der **Ochratoxin A ELISA** stellt ein hochempfindliches Nachweissystem dar und ist insbesondere zur schnellen Quantifizierung von Ochratoxin A in Getreide, Bier und Wein geeignet.

2. TESTPRINZIP

Der **Ochratoxin A** Test basiert auf dem Prinzip des Enzymimmunoassay (EIA). Ein Antikörperbindendes Protein ist auf der Oberfläche der Mikrotiterplatte gebunden. Darauf wird die Ochratoxin A enthaltende Probe bzw. Standards, sowie ein Ochratoxin-Peroxidase-Konjugat und ein gegen Ochratoxin gerichteter Antikörper in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte gegeben. Es findet eine Konkurrenz zwischen markiertem und unmarkiertem Ochratoxin A um die limitierten Antikörper-Bindungsstellen statt. Gleichzeitig wird der anti-Ochratoxin Antikörper an das Antikörper-bindende Protein auf der Mikrotiterplatte gebunden. Nach einer zehnmütigen Inkubation bei Raumtemperatur wird die Platte mit verdünntem Waschpuffer gewaschen, um nicht-gebundenes Material zu entfernen. Eine Substratlösung wird hinzupipettiert und 5 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 Ochratoxin A-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** Ochratoxin A-Standards: 6 Fläschchen mit je 1 mL (0; 2; 5; 10; 20; 50 ppb), in Methanol, rot eingefärbt, gebrauchsfertig. Aufgrund der Gesamtverdünnung von 1:5 durch den Extraktionsprozess enthalten die Standards jeweils 1/5 der angegebenen Konzentration. Weitere Berechnung nach der Analyse ist somit nicht nötig.
3. **Ab** Anti-Ochratoxin Antikörper (Kaninchen): 6 mL, blau eingefärbt, gebrauchsfertig.
4. **ENZ CONJ** Konjugat (Ochratoxin-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. **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.
8. Arbeitsanleitung.

6. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE GERÄTE UND REAGENZIEN

Geräte

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

Reagenzien

- Bidest. Wasser
- Methanol
- Extraktionsadditiv (DEEXSCH2) für Wein Proben

7. PROBENVORBEREITUNG

Getreide

- Probe zermahlen und durch 20 mesh Porenweite sieben.
- 20 g der Probe in 50 mL 70% Methanol suspendieren.
- Suspension 5 min schütteln.
- Extrakt durch Whatman #1 Filter filtrieren oder alternativ 5 min bei mindestens 3000 g zentrifugieren.
- 500 µL Filtrat / überständige Lösung mit 500 µL bidestilliertem Wasser verdünnen und die Probe im ELISA testen.
- Falls beim Verdünnen mit bidest. Wasser Trübungen entstehen, wird empfohlen, diese erneut durch Whatman #1 Filter zu filtrieren oder alternativ 5 min bei mindestens 3000 g zu zentrifugieren. Filtrat / überständige Lösung anschließend im ELISA testen.

Bier / Würze

- Kohlensäure-haltige Bierproben zuvor durch leichtes Erwärmen entgasen.
- Trübe Biere (z.B. Hefeweizen) / Würze zuvor sterilfiltrieren.
- 1 mL Bier / Würze mit 4 mL 35% Methanol- verdünnen und die Probe im ELISA testen.

Wein

- Den pH-Wert einer adäquaten Menge Wein auf pH 7,0 einstellen.
- Zu 10 mL Probe (pH 7,0) 0,5 g Extraktionsadditiv (DEEXSCH2) zugeben und Suspension für 3 min schütteln.
- Durch Whatman #1 Filter filtrieren oder alternativ 5 min bei mindestens 3000g zentrifugieren.
- 1 mL Filtrat / Überstand mit 4 mL 40% Methanol- verdünnen und die Probe im ELISA testen

Sonstige Proben

- Probe zermahlen und durch 20 mesh Porenweite sieben.
- 20 g der Probe in 50 mL 70% Methanol suspendieren.
- Suspension 5 min schütteln.
- Extrakt durch Whatman #1 Filter filtrieren oder alternativ 5 min bei mindestens 3000 g zentrifugieren.
- 500 µL Filtrat / überständige Lösung mit 500 µL bidestilliertem Wasser verdünnen und die Probe im ELISA testen.
- Falls beim Verdünnen mit bidest. Wasser Trübungen entstehen, wird empfohlen, diese erneut durch Whatman #1 Filter zu filtrieren oder alternativ 5 min bei mindestens 3000g zu zentrifugieren.
- pH-Wert auf ca. 6,5 einstellen.
- Probe im ELISA testen.

Im Fall einer zu hoch konzentrierten Probe, werden die Extrakte mit 35% Methanol weiter verdünnt.

8. TESTDURCHFÜHRUNG

1. Proben nach Vorschrift vorbereiten.
2. 50 µL Standards bzw. vorbehandelte Proben im Doppelansatz in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte geben.
3. 50 µL des Ochratoxin-Peroxidase Konjugats in die Vertiefungen pipettieren.
4. 50 µL des Anti-Ochratoxin-Antikörpers in die Vertiefungen pipettieren.
5. Platte für 10 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 5 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

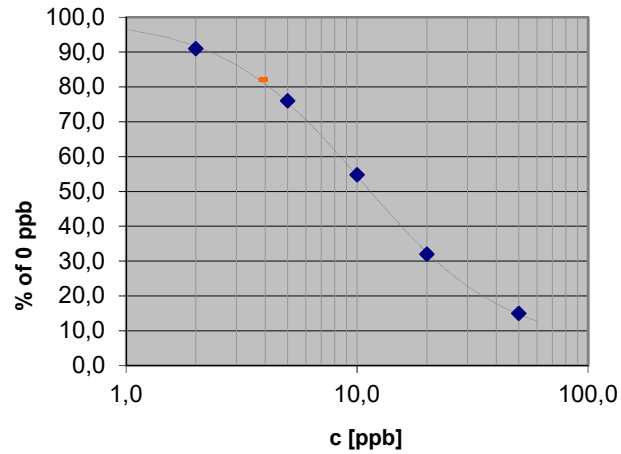
Die gebrauchsfertigen Standards sind für eine direkte Bestimmung der Proben-Konzentration vorbereitet. Die Probenverdünnung, bedingt durch den oben beschriebenen Extraktionsprozess, ist bereits berücksichtigt. Zusätzliche Verdünnung aufgrund sehr hoher Probenkonzentration muss berücksichtigt werden.

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 ppb für Ochratoxin A abgelesen.

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.

Ochratoxin A (ppb)	OD-% von of 0 ppb
0	100
2	91
5	76
10	55
20	31
50	15



11. TECHNISCHE DATEN**Empfindlichkeit**

Die mittlere untere Nachweisgrenze (LOD) des **Ochratoxin A RAPID Tests** beträgt 0,8 ppb. Validierungsexperimente mit gebräuchlichen Matrices resultierten in folgenden unteren Nachweisgrenzen [ppb].

Weizen	1.1
Roggen	0.6
Gerste	1.0
Hafer	1.6
Mais	0.9
Reis	0.1
Bier	0.7
Wein	1.0

Die untere Bestimmungsgrenze (LOQ) des **Ochratoxin A RAPID Tests** beträgt 2 ppb.

Proben mit Ergebnissen kleiner der Bestimmungsgrenze sollten aufgrund der Vielfalt an Matrices und deren Einfluss auf den Hintergrund als negativ bewertet werden.

Wiederfindung

Weizenmehl	107%
Hafermehl	93%
Roggenmehl	100%
Gerstenmehl	103%
Reismehl	107%
Maismehl	100%
Bier	96%
Wein	102%

Linearität

Die schrittweise Verdünnung dotierter Proben über vier Stufen (Weizenmehl, Hafermehl, Roggenmehl, Gerstenmehl, Reismehl, Maismehl, Bier und Wein) ergab Verdünnungslinearitäten von 90-117%.














Präzision

Intra-Assay Präzision	2-4%
Inter-Assay Präzision	5-9%

Kreuzreaktionen

Kreuzreaktionen	relativ zu Ochratoxin A (=100%)
Ochratoxin B	7 %

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 y 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