

Product information

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



Users Manual

T2 Toxin ELISA

Enzyme Immunoassay for the quantitative determination of T-2 Toxin
in food



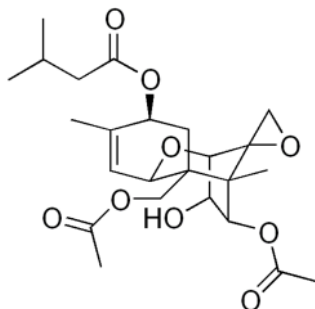
DET2TE01



96

Sensitivity	0.9 – 11.7 ppb
Recovery (spiked samples)	93-115 %
Incubation Time	20 min

1. GENERAL INFORMATION



T-2 Toxin in addition to deoxynivalenol, zearalenone, the fumonisines 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 necroses 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 **T-2 Toxin ELISA** represents a highly sensitive detection system and is particularly capable of the quantification of T-2 Toxin contaminations in cereals, beer, milk and meat.

Due to the cross-reactivity to HT-2 Toxin the test is also suitable for the detection of this mycotoxin to a certain extent.

2. PRINCIPLE OF THE TEST

The **T-2 Toxin** 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 (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. Wear disposable gloves whenever handling patient specimens.
3. 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.
4. 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. Microtiter plate consisting of 12 strips with 8 breakable wells each, coated with antibody-binding protein.
2. T-2 Toxin Standards (0, 0.5, 2.5, 10, 25, 50 ng/mL): 6 vials with 1 mL each, dyed red, ready-to-use.
3. Anti-T-2 Toxin Antibody (rabbit): 6 mL, dyed blue, ready-to-use.
4. Conjugate (T-2 Toxin-Peroxidase): 6 mL, dyed red, ready-to-use.
5. Substrate Solution (TMB): 15 mL, ready-to-use.
6. Stop Solution (1 N acidic solution): 15 mL, ready-to-use.
7. Sample Diluent (PBS): 2 x 60 mL, dyed red, ready-to-use.
8. 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. Plastic bag to store unused microtiter strips.
10. Instruction Manual.

6. ADDITIONAL INSTRUMENTATION AND REAGENTS (NOT PROVIDED)

Instrumentation

- 50, 100, 500 and 1000 µL-micropipets
- ELISA reader (450 nm)
- Centrifuge
- Ultra-Turrax, mixer, vortex

Reagents

- Double distilled water
- Methanol

7. SAMPLE PREPARATION

Cereals / Meat

- Suspend 5 g of previously ground sample in 25 mL of 60 % methanol.
- Mix suspension for 5 minutes.
- Centrifuge extract at 3000 g for 10 minutes.
- Dilute 100 µL of supernatant with 500 µL of sample diluent and test the sample in the ELISA.
- Sample dilution factor: F=30.

Beer / Milk

- Add 10% of methanol to the sample diluent.
- Carbonized beer samples should be previously degassed by moderate heating.
- Cloudy beers (such as beer brewed from wheat) / gyle should previously be sterile-filtered.
- Degrease whole milk samples by centrifugation
- Dilute 100 µL beer / milk with 900 µL sample diluent. Containing 10 % methanol
- Sample dilution factor: F=10.

Due to the linearity of the test system further dilution of high concentrated samples is generally possible. In all cases further dilution should be done with sample diluents containing 10 % of methanol.

8. PROCEDURE

1. Prepare samples as described above.
2. Pipet 100 µL standards or prepared samples in duplicate into the appropriate wells of the micro-titer 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 (1 N acidic solution) 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.

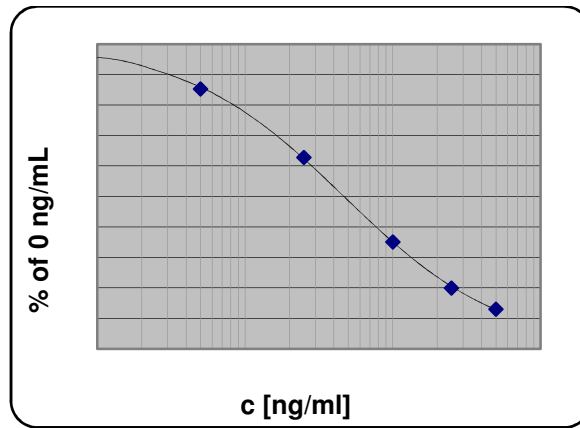
9. CALCULATION OF RESULTS

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.
3. Using the mean optical density value for each sample, determine the corresponding concentration of T-2 toxin in ng/mL from the standard curve. Depending on experience and/or the availability of computer capability, other methods of data reduction may be employed.
4. The diluted samples must be further converted by the appropriate **sample dilution factor**. The factors are listed for each sample matrix in the sample preparation section.

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.

T-2 Toxin (ng/mL)	% binding of 0 ng/mL
0	100
0.5	85
2.5	62
10	35
25	20
50	13



11. PERFORMANCE

Sensitivity

The limit of detection (LOD) of the **T-2 Toxin test** is 0.3 ng/mL.

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

Wheat	8.7
Rye	11.1
Barley	8.0
Oats	11.7
Corn	9.9
Rice	1.8
Meat (pork)	0.9
Milk	3.5
Beer	2.8

The limit of quantification (LOQ) of the **T-2 Toxin test** is 0.5 ng/mL.

Due to the variety of sample matrices and their influence on the blank, results less than the LOQ should be treated as negative.

Recovery

Rye flour	93 %
Corn flour	101 %
Rice flour	115 %
Meat (pork)	101 %
Milk	96 %
Beer	97 %

Linearity

The serial dilution of spiked samples (rye flour, corn flour, rice flour, meat, milk and beer) resulted in a dilution linearity of 86-107 %.

Precision

Intra-assay Precision	3-8 %
Inter-assay Precision	9-11 %

Cross-reactivity

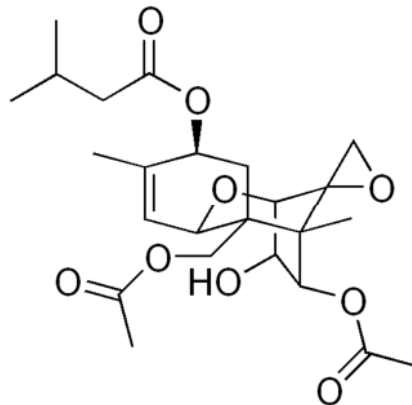
Cross-reactivity	relative to T-2 Toxin (=100 %)
HT-2 Toxin	3.0 %
T-2 Triol	0.35 %
T-2 Tetraol	0.07 %

12. REFERENCES

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

Empfindlichkeit	0,9 -11,7 ppb
Wiederfindung (aufgestockte Proben)	93-115 %
Inkubationszeit	20 min

1. ALLGEMEINES



T-2 Toxin gehört neben Deoxynivalenol, Zearale-non, 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 **T-2 Toxin ELISA** stellt ein hochempfindliches Nachweissystem dar und ist insbesondere zur Quantifizierung von T-2 Toxin Rückständen in Getreide, Bier, Milch und Fleisch geeignet.

Aufgrund der Kreuzreaktivität zu HT-2 Toxin ist der Test zur Detektion dieses Mykotoxins ebenfalls in Grenzen geeignet.

2. TESTPRINZIP

Der **T-2 Toxin 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-T2 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 nichtgebundenes Material zu entfernen. Eine Substratlösung wird hinzupipettiert 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 T2 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. Beim Einsatz von Proben menschlichen Ursprungs müssen Einmalhandschuhe getragen werden.
3. 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.
4. 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. Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten (12 Streifen mit je 8 Vertiefungen, einzeln abbrechbar), beschichtet mit Antikörper-bindendem Protein.
2. T-2 Toxin-Standards: 6 Fläschchen mit je 1 mL (0; 0,5; 2,5; 10; 25; 50 ng/mL), rot eingefärbt, gebrauchsfertig.
3. Anti-T-2 Toxin Antikörper (Kaninchen): 6 mL, blau eingefärbt, gebrauchsfertig.
4. Konjugat (T-2 Toxin-Peroxidase), 6 mL, rot eingefärbt, gebrauchsfertig.
5. Substratlösung (TMB), 15 mL, gebrauchsfertig.
6. Stopp-Lösung (1 N saure Lösung), 15 mL, gebrauchsfertig.
7. Probenverdünner (PBS), 2 x 60 mL, rot eingefärbt, gebrauchsfertig.
8. 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. Ein wiederverschließbarer Plastikbeutel für die Lagerung unbenutzter Streifen.
10. Arbeitsanleitung.

6. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE GERÄTE UND REAGENZIEN

Geräte

- 50, 100, 500 und 1000 µL-Mikropipetten
- Mikrotiterplatten-Photometer (450 nm)
- Zentrifuge
- Ultra-Turrax, Mixer, Vortex

Reagenzien

- Methanol
- Bidest. Wasser

7. PROBENVORBEREITUNG

Getreide / Fleisch

- 5 g zuvor zerkleinerte Probe in 25 mL 60 % Methanol suspendieren.
- 5 min schütteln.
- Extrakt 10 min bei mindestens 3000 g zentrifugieren.
- 100 µL überständige Lösung mit 500 µL Probenverdünner verdünnen und im Test einsetzen.
- Probenverdünnungsfaktor: F=30

Bier / Milch

- Probenverdünner mit 10 % Methanol versetzen.
- Kohlensäure-haltige Bierproben zuvor durch leichtes Erwärmen entgasen.
- Trübe Biere (z.B. Hefeweizen) / Würze zuvor sterilfiltrieren.
- Vollmilchproben zuvor durch Zentrifugation entfetten.
- 100 µL Bier / Milch mit 900 µL Probenverdünner, 10 % Methanol verdünnen.
- Probenverdünnungsfaktor: F=10

Aufgrund der Linearität des Tests ist eine Weiterverdünnung hoch konzentrierter Proben grundsätzlich möglich. Diese sollte in jedem Fall mit Probenverdünner, der 10 % Methanol enthält, erfolgen.

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 (1 N saure Lösung) beenden.
8. Nach sorgfältigem Mischen erfolgt die Messung der Extinktion bei 450 nm (eventuell Referenzwellenlänge 620 nm). Die Farbe ist maximal 30 Minuten stabil.

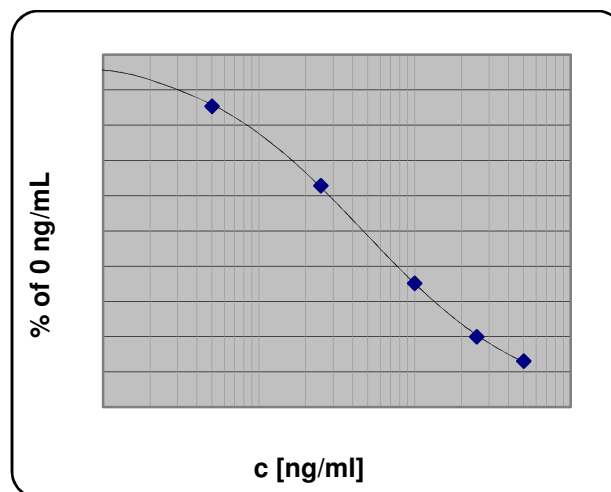
9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

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 (idealerweise 4-Parameter-Methode) eine Eichkurve erstellt. Die Extinktion jedes Standards (y-Achse) wird gegen die Konzentration in ng/mL (x-Achse) aufgetragen.
3. Mit Hilfe dieser Kurve wird für die gemittelten Extinktionen der Proben der Wert in ng/mL für T-2 Toxin abgelesen.
4. Um die in einer Probe tatsächlich enthaltene Konzentration zu errechnen, muss der aus der Kalibrationskurve abgelesene Wert noch mit einem entsprechenden Verdünnungsfaktor, der sich aus der Probenvorbereitung ergibt, multipliziert werden. Die jeweiligen Verdünnungsfaktoren sind unter dem Punkt Probenvorbereitung aufgeführt. Zusätzliche Verdünnungen müssen ebenfalls berücksichtigt werden.

10. TYPISCHE STANDARDKURVE

Die folgende Tabelle enthält ein Beispiel für eine Standardreihe. Die Extinktionen sind in Prozent der Extinktion des 0 ng/mL-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 (ng/mL)	OD-% von 0 ng/mL
0	100
0,5	85
2,5	62
10	35
25	20
50	13



11. TECHNISCHE DATEN

Empfindlichkeit

Die mittlere untere Nachweisgrenze des **T-2 Toxin Tests** beträgt 0,3 ng/mL. Validierungsexperimente mit gebräuchlichen Matrices resultierten in folgenden unteren Nachweisgrenzen [ppb].

Weizen	8,7
Roggen	11,1
Gerste	8,0
Hafer	11,7
Mais	9,9
Reis	1,8
Fleisch (Schwein)	0,9
Milch	3,5
Bier	2,8

Die untere Bestimmungsgrenze des **T-2 Toxin Tests** beträgt 0,5 ng/mL.

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

Wiederfindung

Roggenmehl	93 %
Maismehl	101 %
Reismehl	115 %
Fleisch (Schwein)	101 %
Milch	96 %
Bier	97 %

Linearität

Die schrittweise Verdünnung dotierter Proben über vier Stufen (Roggenmehl, Maismehl, Reismehl, Fleisch (Schwein), Milch und Bier) ergab Verdünnungslinearitäten von 86-107%.

Präzision

Intra-Assay Präzision	3-8 %
Inter-Assay Präzision	9-11 %


Kreuzreaktionen

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

12. 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	Français	Español	Italiano
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conformité aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	Usage Diagnostique in vitro	Para uso 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.	Numéro de catalogue	Número de catálogo	Numero di Catalogo
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	Numéro de lot	Número de lote	Numero di lotto
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	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
Distributed by	Distributor	Vertreiber	Distributeur	Distribuidor	Distributore
Content	Content	Inhalt	Conditionnement	Contenido	Contenuto
Volume/No.	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Quantité	Volumen/Número	Volume/Quantità