

CONGEN

SureFast® VEGAN

Art. No. F4055
100 rxn

User Manual



October 2025

 Inhalt

1	Allgemeines	3
1.1	Beschreibung	3
1.2	Nachweisgrenze	3
1.3	DNA-Präparation	4
1.4	Kit-Inhalt und Lagerung	4
1.5	Zusätzliche benötigte Geräte und Materialien	4
1.6	Vorsichtsmaßnahmen	4
1.7	Geräteeinstellungen	5
1.8	Detektionskanaleinstellungen	5
2	Qualitative Analyse	6
2.1	Protokoll	6
2.1.1	Herstellen des Master-Mix	6
2.1.2	Herstellen des real-time PCR-Mix	6
2.2	Interpretation der Ergebnisse	7
3	Grenzen der Methode	8
4	Weitere Informationen	8
4.1	Weitere Dokumente und Hilfsmittel	8
4.2	Technischer Support	8
4.3	Vertrieb und Bestellung	8



Content

1 General Information9

1.1 Description9

1.2 Limit of Detection9

1.3 DNA-preparation10

1.4 Kit components and storage10

1.5 Additionally required equipment and materials10

1.6 Precautions for users10

1.7 Setup.....11

1.8 Detection channel Set-up11

2 Qualitative Analysis12

2.1 Protocol12

2.1.1 Preparation of the master-mix12

2.1.2 Preparation of the real-time PCR-mix12

2.2 Interpretation of results13

3 Limitations of the method14

4 Further Information14

4.1 Product Information14

4.2 Technical Support14

4.3 Distribution and Ordering14

1 Allgemeines

1.1 Beschreibung

Die SureFast® VEGAN real time PCR ist ein sehr sensitives System zum Nachweis Wirbeltier-DNA sowie gleichzeitiger Differenzierung zwischen Wirbeltier- und Pflanzen-DNA in Lebensmitteln. Die Positive Control entspricht 0,1% Wirbeltier-DNA.

Insekten, Spinnentiere, Weichtiere und Krustentiere werden mit dem System nicht erfasst.

Das Nachweisverfahren kann mit allen gängigen real-time PCR Geräten, die gleichzeitig die Reporterfarbstoffe in den Kanälen **FAM** und **CY5** detektieren können, verwendet werden. Die interne technische Geräteverifizierung erfolgte am Roche LightCycler® 480 II, Qiagen Rotor-Gene Q, Bio-Rad CFX96 Dx, Bio-Rad CFX96 Opus, R-Biopharm RIDA®CYCLER sowie am Agilent AriaDx.

1.2 Nachweisgrenze

Die SureFast® VEGAN real-time PCR hat eine Nachweisgrenze von 0,01 %.

Die Nachweisgrenze des Gesamtverfahrens (DNA-Extraktion und real-time PCR) ist abhängig von der Probenmatrix, Prozessierungsgrad, DNA-Präparation und dem DNA-Gehalt.

Die SureFast® PCR Systeme sind sehr sensitiv. Demzufolge sind bereits sehr geringe Ziel-DNA Gehalte für eine Analyse ausreichend. Über die Bestimmung der Gesamt-DNA in der Probe werden keine Informationen über die Menge und die Qualität an Ziel-DNA erhalten

1.3 DNA-Präparation

Für die DNA-Präparation wird der SureFood® PREP Basic (Art. Nr. S1052), SureFast® Mag PREP Food (Art. Nr. F1060) und für stark prozessierte Proben wird der SureFood® PREP Advanced (Art. Nr. S1053) empfohlen.

1.4 Kit-Inhalt und Lagerung

Kit Code	Reagenz	Menge	Deckelfarbe
1	Reaction Mix	2 x 1050 µl	Gelb
2	Taq Polymerase	1 x 80 µl	Dunkelrot
3	Positive Control	1 x 200 µl	Hellblau

Die Reagenzien sind lichtgeschützt bei -28 bis -16°C zu lagern. Die Taq Polymerase kann bei mehrfacher Verwendung am selben Tag bei +2 bis +8°C gelagert werden.

Hinweis: Die Taq Polymerase kann in gefrorenem oder nicht gefrorenem Zustand vorliegen. Dies hat keinen Einfluss auf die Qualität der Taq Polymerase oder die Performance der real-time PCR.

1.5 Zusätzliche benötigte Geräte und Materialien

- DNA-Extraktionskit
(z.B. SureFood® PREP Basic Art. Nr. S1052 / SureFood® PREP Advanced Art. Nr. S1053 / SureFast® Mag PREP Food Art. Nr. F1060)
- Real-time PCR Gerät mit vier Detektionskanälen (**510 nm**, 580 nm, 610 nm und **660nm**)
- Real-time PCR Verbrauchsmaterialien (Platten, Gefäße, Folien, Deckel)
- Pipetten, Pipettenspitzen mit Filtern
- Einmalhandschuhe, puderfrei
- Vortexmischer
- Mikrozentrifuge mit Rotor für Reaktionsgefäße

1.6 Vorsichtsmaßnahmen

- Eine räumliche Trennung von Extraktion, PCR-Ansatz und PCR ist zu beachten, um Querkontaminationen zu vermeiden.
- Dieser Test ist nur von molekularbiologisch geschultem Laborpersonal durchzuführen.
- Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.
- Während des Umgangs mit Proben Einmalhandschuhe tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen.
- In den Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.
- Testkit nach Erreichen des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden. Bitte beachten Sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften.

1.7 Geräteeinstellungen

	Blockcycler & R-Biopharm RIDA®CYCLER	Rotorcycler
Initial Denaturation (HOLD)	5 min, 95°C	1 min, 95°C
Cycles	30	30
Denaturation	15 sec, 95°C	10 sec, 95°C
Annealing/Extension (CYCLE)	30 sec, 60°C	15 sec, 60°C
Temperature Transition Rate/ Ramp Rate	Maximum	Maximum

1.8 Detektionskanaleinstellungen

Real-time PCR Gerät	Nachweis	Detektions- kanal	Quencher	Bemerkung
Agilent AriaMx / Dx	Pflanze	FAM	+	
	Wirbeltier	Cy5	+	
Bio-Rad CFX96 / Dx / Opus	Pflanze	FAM	+	Baseline Einstellungen: - Baseline subtracted curve fit - Apply fluorescence drift correction
	Wirbeltier	Cy5	+	
R-Biopharm RIDA®CYCLER	Pflanze	green	+	Ignore cycles before , wenn zu Beginn des Laufs eine signifikante Abweichung in der Grundlinie vorliegt. Siehe Seite 47 Bedienungsanleitung des Cyclers, Abschnitt 12.1.2 Parameter der Cycling-Analyse.
	Wirbeltier	red	+	
Qiagen Rotor- Gene Q	Pflanze	green	+	Achtung: Nur 0,1 ml Reaktionsgefäße verwenden. Die Gain-Einstellungen müssen für alle Kanäle auf 5 (Werkseinstellung) eingestellt sein.
	Wirbeltier	red	+	
Roche LightCycler® 480 II	Pflanze	465-510	+	
	Wirbeltier	618-660	+	

2 Qualitative Analyse

2.1 Protokoll

2.1.1 Herstellen des Master-Mix

Die Gesamtzahl der für die PCR benötigten Reaktionen (Proben und Kontrollreaktionen) ist zu berechnen.

Folgende Kontrollen werden empfohlen: Negativkontrolle, Extraktionskontrolle und Positive Control.

Benötigte Reaktionen für den qualitativen Pflanzen- und Wirbeltier -Nachweis:

3 Reaktionen für Kontrollen* (1x Negativkontrolle, 1x Extraktionskontrolle, 1x Positive Control)

Je Probe: mindestens 1 Reaktion für jede Proben-DNA

Des Weiteren wird empfohlen den Mix mit 10 % zusätzlichem Volumen anzusetzen, um einen Pipettierverlust auszugleichen. Vor der Benutzung die Reagenzien auftauen, mischen und zentrifugieren.

Beispiel für die Berechnung und Herstellung von 10 Reaktionen:

Komponenten des Master-Mix	Menge pro Reaktion	10 Reaktionen (zusätzlich 10 %)
Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
Taq Polymerase	0,7 µl	7,7 µl
Gesamtvolumen	20 µl	220 µl

Master-Mix mischen und anschließend kurz zentrifugieren.

2.1.2 Herstellen des real-time PCR-Mix

- Pipettieren von 20 µl des
- -Mix in das jeweilige Reaktionsgefäß.
- Verschließen der Negativkontrolle.
- Pipettieren von 5 µl der Proben-DNA in die vorgesehenen Reaktionsgefäße und verschließen der Gefäße.
- Pipettieren von 5 µl Positive Control in die vorgesehenen Reaktionsgefäße und verschließen der Gefäße.
- Kurzes Zentrifugieren der Reaktionsgefäße mit wenigen Umdrehungen pro Minute.
- Reaktionsgefäße in das real-time PCR Gerät einsetzen und entsprechend der Geräteeinstellungen starten.

*** Beschreibung der einzelnen Kontrollen**

- Negativkontrolle: besteht nur aus dem Master-Mix
- Extraktionskontrolle: die Extraktion wird ohne Probe durchgeführt –Komponenten aus verwendeten Prep Kit
- Positive Control: Master-Mix und die im Kit beigefügte Positive Control

2.2 Interpretation der Ergebnisse

Die Auswertung der Ergebnisse wird mit der Analyse Software der jeweiligen real-time PCR Geräte nach den Angaben des Herstellers durchgeführt.

Die Kontrollreaktionen müssen die korrekten Ergebnisse zeigen.

Mit diesem sehr sensitiven Nachweis werden auch minimale Verunreinigungen durch die Ziel-DNA erfasst (z.B. Pollenflug, humane DNA durch den Bearbeiter). Dies kann zu positiven Signalen der Negativkontrollen führen.

Im FAM-Kanal wird der Parameter Pflanze und im Cy5-Kanal der Parameter Wirbeltier detektiert (siehe Tabelle).

Eine Probe wird als **positiv** für den jeweiligen Parameter bewertet, wenn die Proben-DNA eine Amplifikation im jeweiligen Kanal zeigt.

Erfolgt die Detektion der Proben-DNA im Cy5-Kanal vor dem Signal der Positive Control, liegt die Konzentration der Probe über 0,1% Wirbeltier-DNA. Erfolgt die Detektion der Proben-DNA im Cy5-Kanal nach dem Signal der Positive Control, liegt die Konzentration der Probe unter 0,1% Wirbeltier-DNA.

Eine Probe wird als **negativ** für den jeweiligen Parameter bewertet, wenn die Proben-DNA keine Amplifikation im jeweiligen Kanal zeigt.

Ergebnis im jeweiligen Kanal		Interpretation
FAM-Kanal Pflanze	Cy5-Kanal Wirbeltier	
positiv	negativ	Pflanzen-DNA nachweisbar
negativ	positiv	Wirbeltier -DNA nachweisbar
positiv	positiv	Pflanzen und Wirbeltier-DNA nachweisbar
negativ	negativ	Keine Ziel DNA nachweisbar/ nicht auswertbar

3 Grenzen der Methode

- Die Anwesenheit von PCR-Inhibitoren kann zu nicht auswertbaren Ergebnissen führen.
- Äußerst niedrige Konzentrationen der Zielsequenzen, die unter dem Detektionslimit (LoD) liegen, können zu nicht reproduzierbaren Ergebnissen führen.
- Bei stark prozessierten Proben kann es zu einer Verschiebung der Nachweisgrenze kommen. Faktoren wie hohe Drücke, mechanischen Belastungen, chemische Behandlung, extreme Temperaturen und/oder extreme pH-Werte während des Verarbeitungsprozesses – wie z.B. bei der Konservenherstellung – können Nukleinsäuren beschädigen oder abbauen. Das bedeutet, dass die Empfindlichkeit des Testkits verringert sein kann und möglicherweise nicht alle ursprünglichen Bestandteile erfasst werden.
- Die SureFast® VEGAN real time PCR wird nicht empfohlen für die Untersuchung von Rohstoffen, wie Gelatine.

4 Weitere Informationen

4.1 Weitere Dokumente und Hilfsmittel

- Detaillierte Informationen zur Einstellung bestimmter real-time PCR Geräte (Download: www.congen.de/download)
- Produktbegleitende Unterlagen (Download: www.congen.de/eifu/)
- Validierungsdaten auf Anfrage

4.2 Technischer Support

Bei Fragen zur Durchführung wenden sie sich bitte an Ihren Distributor oder per E-Mail an sales@r-biopharm.de.

4.3 Vertrieb und Bestellung

R-Biopharm AG
An der neuen Bergstrasse 17,
64297 Darmstadt, Germany
Phone: +49 (0) 61 51 - 81 02-0
Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-20
E-Mail: orders@r-biopharm.de
www.r-biopharm.com

r-biopharm®



1 General Information

1.1 Description

The SureFast® VEGAN real time PCR is a highly sensitive system for the detection of traces of vertebrate-DNA and differentiation between DNA of vertebrates and plants in food. The Positive Control corresponds to 0.1% vertebrate-DNA.

Insects, arachnids, molluscs and crustaceans are not detected by this system.

The real-time PCR assay can be performed with commonly used real-time PCR instruments, equipped for detection of fluorescence emissions at the channels **FAM** and **Cy5** at the same time. The internal technical verification of instruments was performed on Roche LightCycler® 480 II, Qiagen Rotor-Gene Q, Bio-Rad CFX96Dx, Bio-Rad CFX96 Opus, R-Biopharm RIDA®CYCLER and Agilent AriaDx.

1.2 Limit of Detection

The SureFast® VEGAN real-time PCR has a limit of detection of 0.01%.

The limit of detection of the complete method (DNA extraction and real-time PCR) depends on sample matrix, processing grade, DNA-preparation and DNA-content.

The SureFast® PCR systems are very sensitive and therefore even a small amount of target DNA is sufficient for a successful analysis. The concentration of total DNA in the sample does not allow a conclusion on the quantity and quality of the target DNA.

1.3 DNA-preparation

For DNA-preparation of raw material the use of SureFood® PREP Basic (Art. No. S1052), SureFast® Mag PREP Food (Art. No. F1060) and for highly processed food and feed the use of SureFood® PREP Advanced (Art. No. S1053) is recommended.

1.4 Kit components and storage

Kit Code	Reagent	Amount	Lid Color
1	Reaction Mix	2 x 1050 µl	Yellow
2	Taq Polymerase	1 x 80 µl	Dark Red
3	Positive Control	1 x 200 µl	Light Blue

Store all reagents at -28 to -16°C and protected from light. The Taq Polymerase can be stored at +2 to +8°C for multiple uses on the same day.

Note: The Taq Polymerase may be in a frozen or unfrozen state. This does not affect the quality of the Taq Polymerase or the performance of the real-time PCR.

1.5 Additionally required equipment and materials

- DNA-Extraction kit
(e.g. SureFood® PREP Basic Art. No. S1052 / SureFood® PREP Advanced Art. No. S1053 / SureFast® Mag PREP Food Art. No. F1060)
- real-time PCR instrument with four detection channels (**510 nm**, 580 nm, 610 nm und **660nm**)
- real-time PCR consumables (plates, tubes, foils, caps)
- pipettes with filter tips
- powder-free disposable gloves
- Vortex mixer
- micro centrifuge with a rotor for the reaction tubes

1.6 Precautions for users

- Extraction, PCR preparation and the PCR run should be separated in different rooms to avoid cross-contaminations.
- This test must only be performed by laboratory personnel trained in molecular biology methods.
- Strictly follow the working instructions.
- When handling samples, wear disposable gloves. After finishing the test, wash your hands.
- Do not smoke, eat or drink in areas where samples or test reagents are being used.
- Do not use the kit after the expiration date.
- All reagents and materials used have to be disposed properly after use. Please refer to the relevant national regulation for disposal.

1.7 Setup

	Blockcycler & R-Biopharm RIDA®CYCLER	Rotorcycler
Initial Denaturation (HOLD)	5 min, 95°C	1 min, 95°C
Cycles	30	30
Denaturation	15 sec, 95°C	10 sec, 95°C
Annealing/Extension (CYCLE)	30 sec, 60°C	15 sec, 60°C
Temperature Transition Rate/ Ramp Rate	Maximum	Maximum

1.8 Detection channel Set-up

Real-time PCR device	Detection	Detection channel	Quencher	Note
Agilent AriaMx / Dx	Plant	FAM	+	
	Vertebrates	Cy5	+	
Bio-Rad CFX96 / Dx / Opus	Plant	FAM	+	Baseline Settings: - Baseline subtracted curve fit - Apply fluorescence drift correction
	Vertebrates	Cy5	+	
R-Biopharm RIDA®CYCLER	Plant	green	+	Ignore cycles before , if there is a significant deviation in the baseline at the start of the run. Please see page 45 of the cycler operating instructions, section 12.1.2 Cycling analysis parameter
	Vertebrates	red	+	
Qiagen Rotor-Gene Q	Plant	green	+	Note: Please use only 0.1 ml reaction tubes. The gain settings must be set to 5 (factory default) for all channels.
	Vertebrates	red	+	
Roche LightCycler® 480 II	Plant	465-510	+	
	Vertebrates	618-660	+	

2 Qualitative Analysis

2.1 Protocol

2.1.1 Preparation of the master-mix

Calculate the total number of reactions needed (samples and control reactions) for the specific PCR assay.

Recommended control reactions for the specific PCR assay: negative control, extraction control, Positive Control.

Reactions needed for the qualitative detection of plant and vertebrates:

3 reactions for controls (1x negative control, 1x extraction control, 1 Positive Control)

For each sample: at least 1 reaction for each sample DNA

It is also recommended to prepare the master-mix with 10% additional volume in order to compensate reagent loss. Allow the reagents to thaw, mix and centrifuge before opening and use.

Example for the calculation and preparation of 10 reactions:

Components of the master-mix	Amount per reaction	10 reactions (with 10% excess)
Reaction Mix	19.3 µl	212.3 µl
Taq Polymerase	0.7 µl	7.7 µl
Total volume	20 µl	220 µl

Mix each master-mix well and centrifuge shortly before use.

2.1.2 Preparation of the real-time PCR-mix

- Pipette 20 µl of the master-mix into appropriate tubes/wells.
- Close the negative control.
- Pipette 5 µl of sample DNA into the designated tubes/wells and close them.
- Pipette 5 µl of Positive Control into the designated tubes/wells and close them.
- Centrifuge all tubes/plates shortly at low speed.
- Place tubes/plates into the real-time PCR instrument and start the run according to the setup.

* Description of the controls

- Negative control: only master-mix
- Extraction control: the extraction is performed without the sample – components from used Prep Kit
- Positive Control: master-mix and within the kit's provided Positive Control

2.2 Interpretation of results

The evaluation has to be made according to the usual analysis program recommended by the real-time PCR instrument manufacturer.

The control reactions have to show the correct results.

With this sensitive real-time PCR kit it is possible to detect minimal contaminations by the target DNA (for example airborne pollen, human DNA from the operator). These can lead to positive signals of the negative controls.

Plant DNA is detected in the FAM-channel and vertebrate DNA is detected in the Cy5-channel.

A sample is stated **positive** for the respective parameter, if the sample DNA shows amplification in the respective channel.

If the sample DNA is detected before the signal of the Positive Control in the Cy5 channel, the concentration of the sample is over 0.1 % vertebrate DNA. If the sample-DNA in the Cy5 channel is detected after the signal of the Positive Control, the concentration of the sample is below 0.1 % vertebrate DNA.

A sample is stated **negative** for the respective parameter, if the sample DNA shows no amplification in the respective channel.

result in the respective channel		Interpretation
FAM channel plant	Cy5 channel vertebrates	
positive	negative	plant DNA detected
negative	positive	vertebrate DNA detected
positive	positive	plant and vertebrate DNA detected
negative	negative	invalid

3 Limitations of the method

- The presence of PCR inhibitors may cause invalid results.
- Extremely low levels of target below the limit of detection (LoD) may be detected, but results may not be reproducible.
- In highly processed samples, the limit of detection may be shifted. Factors such as high pressures, mechanical stresses, chemical treatment, extreme temperatures and/or extreme pH values during manufacturing process – such as in canning production – can damage or degrade nucleic acids. This means that the sensitivity of the test kit may be reduced and not all original components may be detected.
- The SureFast® VEGAN kit is not recommended for raw materials like gelatin.

4 Further Information

4.1 Product Information

- Detailed information about setup of several real-time PCR devices
(Download: www.congen.de/en/downloads)
- Product-related documents (Download: www.congen.de/en/eifu/)
- Validation Report upon request

4.2 Technical Support

For further questions please contact your distributor or send an e-mail to sales@r-biopharm.de.

4.3 Distribution and Ordering

R-Biopharm AG
An der neuen Bergstrasse 17,
64297 Darmstadt, Germany
Phone: +49 (0) 61 51 - 81 02-0
Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-20
E-Mail: orders@r-biopharm.de
www.r-biopharm.com

