

RIDA[®] QUICK Gliadin (single packaged)

Art. No. R7004

Immunchromatographischer Test zum Nachweis von Gluten auf Oberflächen, in Lebensmitteln und in Reinigungs-/Prozesswasser

Immunochemical test for the detection of gluten on surfaces, in food, and in cleansing / process water

Geprüft als / approved as

AOAC Official MethodsSM (2015.16)

for processed/non-processed corn products

AOAC Performance Tested MethodsSM (101702)

for surfaces and cleansing waters



In vitro Test

Lagerung bei 2 - 8 °C

Storage at 2 - 8 °C

Für weitere Fragen stehen Ihnen gerne zur Verfügung:

Please contact for questions and further information:

Zentrale/Switchboard

Tel./Phone: +49 (0) 61 51 - 81 02-0

Auftragsannahme/Order department

Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-20

E-Mail: orders@r-biopharm.de

Marketing & Vertrieb/Marketing & sales

Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-40

E-Mail: info@r-biopharm.de

RIDA[®] und RIDASCREEN[®]
sind eingetragene Marken der R-Biopharm AG
Hersteller: R-Biopharm AG, Darmstadt, Deutschland

R-Biopharm AG ist ISO 9001 zertifiziert.

RIDA[®] and RIDASCREEN[®]
are registered trademarks of R-Biopharm AG
Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

Kurzinformation

RIDA[®]QUICK Gliadin (single packaged) (Art. Nr. R7004) ist ein immunchromatographischer Test zum qualitativen Nachweis von Gluten-Kontaminationen

- auf Oberflächen (Wischtest zur Hygienekontrolle in Produktion und Labor)
- in Reinigungs-/Prozesswasser (CIP water)
- in glutenfreien Rohwaren nach einer Ethanolextraktion
- in prozessierten, glutenfreien Lebensmitteln nach Extraktion mit dem Cocktail (patented) oder dem RIDA[®] Cocktail ECO.

Der baugleiche Teststreifen (Art. Nr. R7003)

- **ist geprüfte AOAC OMA 2015.16 Methode für auf Mais basierende Lebensmittelproben mit Ethanol oder Cocktail (patented) Aufarbeitung**
- **hat AOAC PTM (101702) für Oberflächen und Reinigungs-/Prozesswasser.**

Ein Testkit enthält 25 Teststreifen (einzeln verpackt) für je eine Bestimmung. Für die Durchführung eines Wischtests sind alle Reagenzien im Testkit enthalten. Die Auswertung erfolgt visuell.

Zeitbedarf:	Probennahme Wischtest	ca. 1 min
	Probenvorbereitung für	
	10 Reinigungs-/Prozesswasser	ca. 5 min
	10 Rohwaren.....	ca. 15 min
	10 prozessierte Lebensmittel (R7006)....	ca. 120 min
	10 prozessierte Lebensmittel (R7080).....	ca. 35 min
	Testdurchführung (Inkubationszeit)	5 min

Nachweisgrenze:	- Oberflächen ca. 1,6 - 3 µg Gluten / 100 cm ²
	- Rohwaren ca. 4,4 mg/kg Gluten abhängig von der Matrix
	- Prozessierten Lebensmitteln ca. 6,3 mg/kg Gluten abhängig von der Matrix
	- Reinigungs-/Prozesswasser (ohne Reiniger) ca. 10 ng/ml Gluten
	- Reinigungs-/Prozesswasser (mit Reiniger) ca. 50 - 100 ng/ml Gluten

Spezifität:	Der eingesetzte monoklonale Antikörper R5 erkennt die Gliadinfraktionen aus Weizen und verwandte Prolamine aus Roggen und Gerste.
-------------	--

Die Kreuzreaktivitäten des eingesetzten Antikörpers wurden für das reine Lebensmittel (z.B. Maismehl) bestimmt. In einem zusammengesetzten / verarbeiteten Lebensmittel (z.B. Maisbrot) können diese Kreuzreaktivitäten verändert sein. Potentiell interferierende Substanzen (z.B. Polyphenole) können durch Spikeversuche erkannt werden.

Verwandte Produkte:

RIDASCREEN® Gliadin (Art. Nr. R7001)
RIDASCREEN®FAST Gliadin (Art. Nr. R7002)
RIDASCREEN®FAST Gliadin sensitive (Art. Nr. R7051)
RIDASCREEN® Gliadin competitive (Art. Nr. R7021)
RIDA®QUICK Gliadin (Art. Nr. R7003)
RIDA®QUICK Gliadin (ready to swab) (Art. Nr. R7005)
Cocktail (patented) (Art. Nr. R7006 / R7016)
RIDA® Cocktail ECO (Art. Nr. R7080)
RIDA® Extraction Solution (colorless) (Art. Nr. R7098)
Set of 3 processed Gliadin Assay Controls (Art. Nr. R7012)
SureFood® ALLERGEN PCR Gluten (Art. Nr. S3606)

1. Verwendungszweck

Der RIDA®QUICK Gliadin kann für den qualitativen Glutennachweis auf Oberflächen in der Hygienekontrolle (Wischtest), in Reinigungs-/Prozesswasser, in Rohwaren und in prozessierten Lebensmitteln eingesetzt werden. Der Test wurde zum Nachweis geringer Glutengehalte (Kontaminationen) entwickelt. Bei hohen Konzentrationen tritt **kein** Überladungseffekt (High-Dose-Hook-Effekt) ein. Bei sehr hohen Konzentrationen (> 10.000 mg/kg Gluten) kann es jedoch zu einem Verschmieren der roten Testbande kommen.

2. Allgemeines

Weizenmehl und Gluten werden häufig aufgrund ihrer physikochemischen Eigenschaften als Kleber- und Streckungsmittel bei der Verarbeitung von Nahrungsmitteln eingesetzt. Als Gluten bezeichnet man das Eiweißgemisch aus Prolaminen und Glutelinen, welches in Weizen, Roggen und Gerste vorkommt.

Zöliakie ist eine permanente Glutenunverträglichkeit, die zu einer Schädigung des Dünndarms führt. Die Symptome sind bei einer glutenfreien Diät reversibel.

Die Codex Alimentarius Kommission hat in dem "Codex Standard for Foods for Special Dietary Use for Persons Intolerant to Gluten" (CODEX STAN 118-1979) den Grenzwert für glutenfreie Lebensmittel auf 20 mg/kg Gluten festgesetzt.

Dieser Grenzwert wurde auch von vielen nationalen Gesetzgebungen übernommen. Der Prolamingehalt (z.B. Gliadin) von Gluten wird mit 50 % festgelegt (CODEX STAN 118-1979).

Die offizielle Typ I Methode zur Glutenbestimmung ist nach dem Codex Alimentarius ein ELISA unter Verwendung des R5-Antikörpers (Mendez). Der RIDASCREEN® Gliadin Test (Art. Nr. R7001) erfüllt diese Anforderung. **Der RIDA®QUICK Gliadin Teststreifen basiert auch auf dem R5 Antikörper und zeigt daher eine gute Übereinstimmung mit der offiziellen Methode, dem R5-ELISA RIDASCREEN® Gliadin. R-Biopharm AG ist die einzige Firma, die den R5 Antikörper in Teststreifen verwenden darf.**

3. Testprinzip

Der immunchromatographische Test basiert auf dem monoklonalen R5-Antikörper, der die Gliadinfraktion aus Weizen sowie Prolamine aus Roggen und Gerste erkennt. Bei Anwesenheit von Gliadinen bildet sich an der Testbande ein Sandwich aus immobilisiertem R5 Antikörper, Gliadin und mit roten Latexpartikeln gekoppeltem R5 Antikörper.

Die Auswertung erfolgt visuell. Im Allgemeinen gilt, je höher die Gliadinkonzentration, umso stärker ist die rote Farbe der Testbande.

4. Packungsinhalt

Mit den Reagenzien einer Packung können 25 Bestimmungen durchgeführt werden.

Komponente	Deckelfarbe	Zustand	Inhalt
Test strip Teststreifen		gebrauchsfertig, einzeln verpackt	25 Stück
Test tube Reaktionsröhrchen			30 Stück
Buffer Puffer	transparent	gebrauchsfertig	60 ml
Evaluation card Auswertekarte			1 Stück

5. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

5.1. Geräte:

Für die Analyse von Rohwaren und prozessierten Lebensmitteln

- Waage
- Schlagmühle, Mörser, Ultra-Turrax oder Homogenisator
- Schüttler
- zentrifugierbare Reagenzröhrchen + Zentrifuge oder Papierfilter
- Messpipetten

5.2. Reagenzien:

Für die Analyse von Rohwaren

- destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Magermilchpulver (Lebensmittelqualität) für soja-, tannin- und polyphenolhaltige Lebensmittel
- Ethanollösung (60 %) für die Extraktion der Proben (150 ml Ethanol p.a. mit 100 ml destilliertem Wasser gut mischen)

Für die Analyse von prozessierten Lebensmittel

- destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Magermilchpulver (Lebensmittelqualität) für soja-, tannin- und polyphenolhaltige Lebensmittel
- Ethanollösung (80 %) für die Extraktion der Proben (120 ml Ethanol p.a. mit 30 ml destilliertem Wasser gut mischen)
- **Cocktail (patented)** (R7006 / R7016) oder **RIDA® Cocktail ECO** (R7080)

6. Vorsichtsmaßnahmen

Dieser Test ist nur von geschultem Personal durchzuführen. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.

Dieses Kit kann gesundheitsgefährdende Substanzen enthalten.

Sicherheitshinweise zu den enthaltenen Komponenten entnehmen Sie bitte den Sicherheitsdatenblättern (MSDS) zu diesem Produkt auf unserer Internetseite www.r-biopharm.de.

7. Reagenzien und ihre Lagerung

Den ungeöffneten Test bei 2 - 8 °C lagern. Das Testkit auf keinen Fall einfrieren.

Die Teststreifen sind feuchtigkeitsempfindlich. Feuchte Teststreifen können das Testergebnis negativ beeinflussen, deshalb unbedingt vor Feuchtigkeit schützen!

Nach Ablauf des Verfallsdatums (siehe Testkit-Außenetikett unter Expiry) kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.

8. Testdurchführung

Luftgetragene Stäube und unsaubere Laborausrüstung können zu einer Glutentkontamination im Test führen. Um eine Kreuzkontamination durch Getreidestäube zu vermeiden, bitte folgende Punkte beachten:

- Handschuhe vor Beginn und während des Tests tragen
- Oberflächen reinigen, Glasgefäße, Schlagmühlen und weitere Ausrüstung mit 40 % Ethanol oder 2-Propanol reinigen
- bei der Analyse sollte die Extraktion und die Testdurchführung in getrennten Räumen durchgeführt werden
- bei Verwendung des Cocktail (patented) wird empfohlen **unter einem Abzug** zu arbeiten, da er β -Mercaptoethanol enthält

8.1. Wischtest: Probenahme und Testdurchführung

Im Rahmen der AOAC-RI Validierung wurden rostfreier Stahl, Keramikfliesen, Plastik und Silikon validiert (siehe Validierungsbericht).

1. So viele Reaktionsröhrchen aufstellen, wie Oberflächen zu analysieren sind.
2. 500 μ l des Puffers in die Reaktionsröhrchen vorlegen
3. Mit dem unteren Ende (Reaktionszone) eines trockenen Teststreifens eine Fläche von 10 x 10 cm gründlich abwischen (Handschuhe tragen).
4. Den Teststreifen mit dem Pfeil nach unten in das Reaktionsröhrchen geben. Den Teststreifen nur bis zur max. Linie eintauchen.
5. Den Teststreifen nach genau 5 Minuten (+/- 10 s) entnehmen und das Ergebnis mit Hilfe der Auswertekarte ablesen.



8.2. Analyse von Reinigungs-/Prozesswasser

Im Rahmen der AOAC-RI Validierung wurden kommerzielle Reinigungslösungen und reines Wasser getestet (siehe Validierungsbericht).

8.2.1 Reinigungs-/Prozesswasser ohne Reinigungsmittel

1. So viele Reaktionsröhrchen aufstellen, wie Proben zu analysieren sind.
2. 250 µl des Puffers in die Reaktionsröhrchen vorlegen
3. 250 µl des Spülwassers in das Reaktionsröhrchen pipettieren und vorsichtig mischen.
4. Den Teststreifen mit dem Pfeil nach unten in das Reaktionsröhrchen geben. Den Teststreifen nur bis zur max. Linie eintauchen.
5. Den Teststreifen nach genau 5 Minuten (+/- 10 s) entnehmen und das Ergebnis mit Hilfe der Auswertekarte ablesen.

8.2.2 Reinigungs-/Prozesswasser mit Reinigungsmittel

1. So viele Reaktionsröhrchen aufstellen, wie Proben zu analysieren sind.
2. 500 µl des Puffers in die Reaktionsröhrchen vorlegen.
3. 50 µl des Spülwassers in das Reaktionsröhrchen pipettieren und vorsichtig mischen.
4. Den Teststreifen mit dem Pfeil nach unten in das Reaktionsröhrchen geben. Den Teststreifen nur bis zur max. Linie eintauchen.
5. Den Teststreifen nach genau 5 Minuten (+/- 10 s) entnehmen und das Ergebnis mit Hilfe der Auswertekarte ablesen.

8.3. Analyse von Lebensmitteln

Im Rahmen der AOAC OMA 2015.16 Validierung wurden prozessierte und nicht-prozessierte Maisproben unter Verwendung von 60 % Ethanol und der Cocktail (patented) Extraktion validiert (siehe Validierungsbericht).

Magermilchpulver als Zugabe bei der Probenaufarbeitung

In Abhängigkeit von der Extraktionsmethode ist bei einigen Inhaltsstoffen die Zugabe von Magermilchpulver nötig, um unerwünschte Störreaktionen zu vermeiden.

Inhaltsstoffen in Lebensmitteln	Ethanol Extraktion	Cocktail (patented) / RIDA® Cocktail ECO Extraktion
Soja	1 g Magermilchpulver	—
Tannin- und polyphenolhaltige Lebensmittel (z.B. Schokolade, Kaffee, Kakao, Kastanienmehl, Buchweizen, Hirse und Gewürze)	1 g Magermilchpulver	0.25 g Magermilchpulver

8.3.1. Extraktion mit Ethanol für Rohwaren (flüssige und weiche Rohware)

- **flüssige Rohware:** 1 ml Probe mit 9 ml 60 % Ethanollösung mischen
- bei z.B. sojamilch/tannin- und polyphenolhaltigen Lebensmitteln zusätzlich 1 g Magermilchpulver hinzufügen
- **weiche Rohware:** 1 g einer repräsentativen Probe in 10 ml 60 % Ethanollösung aufnehmen
- bei z.B. sojamilch/tannin- und polyphenolhaltigen Lebensmitteln zusätzlich 1 g Magermilchpulver hinzufügen
- mind. 30 Sek. gründlich mischen (Vortex)
- zentrifugieren: 10 min / mind. 2500 g / Raumtemperatur (20 - 25 °C)
alternativ: Probe absetzen lassen und / oder filtrieren

8.3.2 Extraktion mit Ethanol (feste und harte Rohware)

- 5 g Probe sorgfältig zerstoßen und fein zermahlen
- von dem nun vorliegenden Puder 1 g abnehmen und 10 ml 60 % Ethanollösung hinzufügen (bei soja-/tannin- und polyphenolhaltigen Lebensmitteln 1 g Magermilchpulver zugeben)
- mind. 30 Sek. gründlich mischen (Vortex)
- zentrifugieren: 10 min / mind. 2500 g / Raumtemperatur (20 - 25 °C)
- alternativ: Probe absetzen lassen und / oder filtrieren

8.3.3 Extraktion mit Cocktail (patented) für prozessierte Lebensmittel

Eine ausreichend große Menge der Probe (mind. 50 g bzw. 50 ml) gut homogenisieren (sorgfältig zerstoßen, fein zermahlen und gut mischen bzw. die Lösung gut mischen).

- **flüssige Lebensmittel:** zu 0,25 ml der homogenisierten Probe (bei tannin- und polyphenolhaltigen Lebensmitteln 0.25 g Magermilchpulver zugeben) 2,5 ml Cocktail (patented) hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen
- **sonstige Lebensmittel (z.B. soja- und quinoahaltige Lebensmittel):** 0,25 g der homogenisierten Probe einwiegen und 2,5 ml Cocktail (patented) hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen
- **tannin- und polyphenolhaltige Lebensmittel (z.B. Schokolade, Kaffee, Kakao, Kastanienmehl, Buchweizen, Hirse und Gewürze):** 0,25 g der homogenisierten Probe einwiegen, 0,25 g Magermilchpulver und 2,5 ml Cocktail (patented) hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen
- **Fleisch- und Wurstwaren:** die Glutenverteilung kann in diesen Lebensmitteln sehr ungleich sein, deshalb 50 g Probe einwiegen und homogenisieren: 0,25 g der homogenisierten Probe einwiegen und 2,5 ml Cocktail (patented) hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen
- **Haferproben:** die Glutenverteilung kann sehr ungleich sein, zusätzlich sind diese Proben schwer zu homogenisieren. Deshalb 200 g Probe homogenisieren, die Probenaufarbeitung sollte dann mindestens mit dem vierfachen Ansatz durchgeführt werden: 1 g der homogenisierten Probe einwiegen und 10 ml Cocktail (patented) hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen.

Bitte alle Proben wie im Folgenden beschrieben weiter extrahieren:

- 40 min bei 50 °C im Wasserbad inkubieren
- Probe abkühlen lassen und anschließend mit 7,5 ml 80 % Ethanol (siehe 5.2.) versetzen (bei Haferproben: 30 ml 80% Ethanol)
- Gefäß verschließen und 1 h bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) über Kopf schütteln oder mittels Rotator rotieren lassen
- zentrifugieren: 10 min, mind. 2500 g, bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) oder 2 ml des Extraktes in ein Reaktionsgefäß überführen und in einer Mikrozentrifuge für 10 min hochtourig zentrifugieren, um einen partikelfreien Überstand zu erhalten (alternativ kann der Extrakt nur filtriert werden)
- den partikelfreien Überstand in ein verschließbares Röhrchen überführen (je nach Probe kann es notwendig sein, den Überstand zusätzlich zu filtrieren)

Anmerkung:

Nach dem Zentrifugations- oder Filtrationsschritt sind alle Überstände / Filtrate in einem gut verschlossenen Gefäß bis zu vier Wochen im Dunkeln bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) haltbar.

8.3.4 Extraktion mit RIDA® Cocktail ECO für prozessierte Lebensmittel

Die schnellere Probenaufarbeitung mit dem umweltfreundlichen **Cocktail ECO** (R7080) eignet sich für das Screening von Proben. Gegenüber der Extraktion mit Cocktail (patented) erreicht der Cocktail ECO eine Extraktionseffizienz von etwa 70-110%.

Eine ausreichend große Menge der Probe (mind. 50 g bzw. 50 ml) gut homogenisieren (sorgfältig zerstoßen, fein zermahlen und gut mischen bzw. die Lösung gut mischen). Die notwendige Menge an gebrauchsfertigem Cocktail ECO gemäß der Produktinformation RIDA® Cocktail ECO (R7080) herstellen.

- **flüssige Lebensmittel:** zu 0,25 ml der homogenisierten Probe (bei tannin- und polyphenolhaltigen Lebensmitteln 0,25 g Magermilchpulver zugeben) 2,5 ml RIDA® Cocktail ECO hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen
- **sonstige Lebensmittel (z.B. soja- und quinoahaltige Lebensmittel):** 0,25 g der homogenisierten Probe einwiegen und 2,5 ml RIDA® Cocktail ECO hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen
- **tannin- und polyphenolhaltige Lebensmittel (z.B. Schokolade, Kaffee, Kakao, Kastanienmehl, Buchweizen, Hirse und Gewürze):** 0,25 g der homogenisierten Probe einwiegen, 0,25 g Magermilchpulver und 2,5 ml RIDA® Cocktail ECO hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen
- **Fleisch- und Wurstwaren:** die Glutenverteilung kann in diesen Lebensmitteln sehr ungleich sein, deshalb 50 g Probe einwiegen und homogenisieren: 0,25 g der homogenisierten Probe einwiegen und 2,5 ml RIDA® Cocktail ECO hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen
- **Haferproben:** die Glutenverteilung kann sehr ungleich sein, zusätzlich sind diese Proben schwer zu homogenisieren. Deshalb 200 g Probe homogenisieren, die Probenaufarbeitung sollte dann mindestens mit dem vierfachen Ansatz durchgeführt werden: 1 g der homogenisierten Probe einwiegen und 10 ml RIDA® Cocktail ECO hinzugeben, Gefäß verschließen und gut mischen.

Bitte alle Proben wie im Folgenden beschrieben weiter extrahieren:

- 10 min bei 50 °C im Wasserbad inkubieren
- Probe abkühlen lassen und anschließend mit 7,5 ml 80 % Ethanol (siehe 5.2.) versetzen (bei Haferproben: 30 ml 80% Ethanol)

- Gefäß verschließen und 10 min bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) über Kopf schütteln oder mittels Rotator rotieren lassen
- zentrifugieren: 5 min, mind. 2500 g, bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) oder 2 ml des Extraktes in ein Reaktionsgefäß überführen und in einer Mikrozentrifuge für 5 min hochtourig zentrifugieren, um einen partikelfreien Überstand zu erhalten (alternativ kann der Extrakt nur filtriert werden)
- den partikelfreien Überstand in ein verschließbares Röhrchen überführen (je nach Probe kann es notwendig sein, den Überstand zusätzlich zu filtrieren)

Anmerkung:

Nach dem Zentrifugations- oder Filtrationsschritt sind alle Überstände / Filtrate in einem gut verschlossenen Gefäß bis zu zwei Wochen im Dunkeln bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) haltbar.

8.3.5 Testdurchführung Rohware und prozessierte Lebensmittel

1. So viele Reaktionsröhrchen aufstellen, wie Proben zu analysieren sind.
2. 500 µl des Puffers in die Reaktionsröhrchen vorlegen
3. 50 µl des Überstandes / Filtrates der extrahierten Probe in das Reaktionsröhrchen pipettieren und vorsichtig mischen.
4. Den Teststreifen mit dem Pfeil nach unten in das Reaktionsröhrchen geben. Den Teststreifen nur bis zur max. Linie eintauchen.
5. Den Teststreifen nach genau 5 Minuten (+/- 10 s) entnehmen und das Ergebnis mit Hilfe der Auswertekarte ablesen.

9. Auswertung

Positives Ergebnis: zwei farbige Banden

Die Probe ist positiv, wenn im Ergebnisfeld zwei farbige Banden (die blaue Kontrollbande und die rote Testbande) sichtbar sind. Bei Wischtests können vollständige Banden ungleichmäßiger Intensität auftreten, dies wird durch eine inhomogene Glutenverteilung auf der Oberfläche oder aufgrund der unterschiedlichen Wischprozeduren verursacht.

Wischtest:	> ca. 1,6 - 3 µg Gluten/100 cm ²
Rohware:	> ca. 4,4 mg/kg Gluten
Prozessierte Lebensmittel:	> ca. 6,3 mg/kg Gluten
Reinigungs-/Prozesswasser (ohne Reiniger):	> ca. 10 ng/ml Gluten
Reinigungs-/Prozesswasser (mit Reiniger):	> ca. 50 - 100 ng/ml Gluten

Negatives Ergebnis: nur die blaue Kontrollbande

Die Probe ist negativ, wenn im Ergebnisfeld keine rote Testbande sichtbar ist.

Wischtest:	< ca. 1,6 - 3 µg Gluten/100 cm ²
Rohware:	< ca. 4,4 mg/kg Gluten
Prozessierte Lebensmittel:	< ca. 6,3 mg/kg Gluten
Reinigungs-/Prozesswasser (ohne Reiniger):	< ca. 10 ng/ml Gluten
Reinigungs-/Prozesswasser (mit Reiniger):	< ca. 50 - 100 ng/ml Gluten

Ungültiges Ergebnis: keine farbige Bande

Wenn nach der Testdurchführung keine blaue Bande bzw. eine inkomplette rote Testbande sichtbar wird, bedeutet dies, dass das Ergebnis ungültig ist und wiederholt werden muss.

Generell

Ein negatives Ergebnis schließt nicht aus, dass eine Glutenkontamination unterhalb der Nachweisgrenze dieses Testes vorliegt, oder dass andere Getreidekomponenten, wie z.B. Stärke, in einer Probe enthalten sein können.

Aufgrund der Vielzahl an Lebensmitteln können Matrixeffekte nicht ausgeschlossen werden. In prozessierten (z.B. Erhitzung, Trocknung, etc.) Lebensmitteln können Proteine verändert und/oder fragmentiert werden; dies kann die Wiederfindung/Kreuzreaktivität beeinträchtigen.

Zur Bestimmung der Kreuzreaktivitäten wurde jeweils eine exemplarische Probe verwendet, andere Proben können verschiedene Ergebnisse liefern. Alle Kreuzreaktivitäten und exemplarisch analysierten Matrices sind im aktuellen Validierungsbericht beschrieben.

Der Teststreifen wurde zum Nachweis von geringen Glutenkontaminationen entwickelt.

Die Nachweisgrenze ist abhängig von der Probenart und der Extraktionseffizienz bzw. von der Beschaffenheit der Oberfläche und der Art der Kontamination.

Die Probenextraktion mit Ethanol sollte nur für Rohwaren, die sicher nicht erhitzt und nicht prozessiert wurden, verwendet werden.

Ein negatives Ergebnis bedeutet nicht zwangsläufig die Abwesenheit von Gluten, da Gluten inhomogen verteilt sein kann oder die Glutenkonzentration des Produktes unterhalb der Nachweisgrenze liegt.

Limitationen

Spülwasser mit Hypochlorit-haltigen Reinigern können nicht untersucht werden. Dieser Reiniger zerstört das Gluten in der Probe sehr schnell durch Oxidation. Der

Streifentest kann die möglicherweise zurückbleibenden Gluten-Fragmente nicht mehr erkennen.

Empfehlung

Um eine hohe analytische Sicherheit zu gewährleisten, wird empfohlen:

- bei extrem sauren oder basischen Proben den pH-Wert auf neutral einzustellen
- zur Qualitätskontrolle Testkontrollen (R7012 für Cocktailextraktion) bzw. gespikte Proben einzusetzen
- zur Prüfung auf richtige und störungsfreie Durchführung der Bestimmung Dotierungsversuche durchzuführen
- die Extraktionseffizienz von Ethanol und RIDA® Cocktail ECO (R7080) mit dem Cocktail (patented) (R7006 / R7016) zu vergleichen.
- den ELISA RIDASCREEN® Gliadin (Art. Nr. R7001) zur Quantifizierung einzusetzen; dieser Testkit ist auch AOAC-RI und AOAC-OMA (Official Method of Analysis) validiert
- zur Bestätigung des Ergebnisses eine Gluten PCR mit SureFood® durchzuführen

Zur Aufbewahrung des Teststreifens muss der obere mit „Gluten“ beschriftete Teil zusammen mit den Testbanden abgetrennt werden.

Für weitere Produktinformationen, Validierungsdaten und Applikationen kontaktieren Sie bitte info@r-biopharm.de.

Weitere Applikationen

- Probenaufarbeitung für prozessierte Lebensmittel mit der RIDA® Extraction Solution (colorless) (Art. Nr. R7098) - **nur nach Validierung**
- Probenaufarbeitung für polyphenolhaltige Rohware mit Fischgelatine

Diese Angaben entsprechen dem heutigen Stand unserer Kenntnisse und sollen über unsere Produkte und deren Anwendungsmöglichkeiten informieren. Sie haben somit nicht die Bedeutung, bestimmte Eigenschaften der Produkte oder deren Eignung für einen konkreten Einsatzzweck zuzusichern. R-Biopharm übernimmt keine Gewährleistung, außer für die standardisierte Qualität der Reagenzien. Defekte Produkte werden ersetzt. Für darüber hinaus gehende direkte, indirekte Schäden oder sonstige Kosten im Zusammenhang mit der Nutzung der Produkte haftet R-Biopharm nicht.

RIDA[®]QUICK Gliadin (single packaged)

Brief information

RIDA[®]QUICK Gliadin (single packaged) (Art. No. R7004) is an immuno-chromatographic test for the qualitative detection of gluten contamination

- on surfaces (swab test for the hygiene control in production and in laboratories)
- in cleansing waters (CIP waters)
- in gluten-free raw material after ethanol extraction
- in gluten-free processed food after extraction with the Cocktail (patented) or with RIDA[®] Cocktail ECO.

The identical test strip RIDA[®]QUICK Gliadin (Art. No. R7003)

- **has been approved as AOAC-OMA 2015.16 for corn based food matrices using Cocktail (patented) or ethanol extraction**
- **has AOAC PTM (101702) for swabbing and cleansing waters.**

The test kit contains 25 test strips (single packaged) for 1 determination each. All reagents required for the swab test are contained in the test kit. Results are evaluated visually.

Time requirement: sampling for swab test..... approx. 1 min
 sample preparation
 for 10 cleansing waters..... approx. 5 min
 for 10 raw materials approx. 15 min
 for processed food (R7006) approx. 120 min
 for processed food (R7080) approx. 35 min
 test implementation (incubation time) 5 min

Detection limit: - **surfaces** approx. 1.6 - 3 µg gluten / 100 cm²
 - **raw material** approx. 4.4 mg/kg gluten
 depending on food matrix
 - **processed food** approx. 6.3 mg/kg gluten
 depending on food matrix
 - **cleansing water (without cleansing reagent)**
 approx. 10 ng/ml gluten
 - **cleansing water (with cleansing reagent)**
 approx. 50 - 100 ng/ml gluten

Specificity: The **monoclonal antibody R5** reacts with the gliadin-fraction from wheat and corresponding prolamins from rye and barley.

Cross reactivities of the used antibody have been determined for the pure food (e.g. corn flour). In composed / processed food (e.g. maize bread), cross reactivities might be different. Interfering substances (e.g. polyphenols) can be detected by spike experiments.

Related products:

RIDASCREEN® Gliadin (Art. No. R7001)
RIDASCREEN®FAST Gliadin (Art. No. R7002)
RIDASCREEN®FAST Gliadin sensitive (Art. No. R7051)
RIDASCREEN® Gliadin competitive (Art. No. R7021)
RIDA®QUICK Gliadin (Art. No. R7003)
RIDA®QUICK Gliadin (ready to swab) (Art. No. R7005)
Cocktail (patented) (Art. No. R7006 / R7016)
RIDA® Cocktail ECO (Art. No. R7080)
RIDA® Extraction Solution (colorless) (Art. No. R7098)
Set of 3 processed Gliadin Assay Controls (Art. No. R7012)
SureFood® ALLERGEN PCR Gluten (Art. No. S3606)

1. Intended use

RIDA®QUICK Gliadin can be used for gluten detection on surfaces for hygiene control (swab test), in cleansing waters, and in raw material and processed food. The test has been developed for the detection of low amounts of gluten (contamination). **No** high-dose-hook-effect is observed at high concentrations. However, the red target band may smear at very high gluten concentrations (> 10000 mg/kg gluten).

2. General

The use of wheat flour and gluten in foodstuff is extremely common because of their useful effects on e.g. texture, moisture retention and flavour. Gluten is a mixture of prolamin and glutelin proteins present in wheat, rye and barley.

Coeliac disease is a permanent intolerance to gluten that results in damage to the small intestine and is reversible when gluten is avoided by diet.

The Codex Alimentarius Commission has stipulated in the „Codex Standard for Foods for Special Dietary Use for Persons Intolerant to Gluten” (CODEX STAN 118-1979) the limit value for gluten-free food at 20 mg/kg gluten. This threshold

has also been adopted by many national legislations. The prolamin content (e.g. gliadin) of gluten is generally assumed to be 50 % (CODEX STAN 118-1979).

The official type I method for gluten determination according to the Codex Alimentarius is an ELISA which uses the R5 antibody (Mendez). This requirement is fulfilled by RIDASCREEN® Gliadin test (Art. No. R7001). **The RIDA® QUICK Gliadin test strips also use the R5 antibody and show a good correlation with the official method, the R5-ELISA RIDASCREEN® Gliadin. R-Biopharm AG is the only company that is allowed to use the R5 antibody for test strips.**

3. Test principle

The basis of the immuno-chromatographic test is the monoclonal R5-antibody which is specific for the detection of gliadin from wheat and prolamins from rye and barley. If gliadin is present, a sandwich is formed at the test band consisting of immobilized R5 antibody, gliadin and red latex-labeled R5 antibody.

Results are read visually. Generally, the higher the analyte level in the sample, the stronger the red color of the test band will be.

4. Reagents provided

Each kit contains sufficient materials for 25 measurements.

Component	Cap color	Format	Volume
Test strip	-	Ready to use, single packaged	25 pieces
Test tube			30 pieces
Buffer	transparent	Ready to use	60 ml
Evaluation card			1 piece

5. Materials required but not provided

5.1. Equipment:

For analysis of raw material and processed food

- scales
- laboratory mincer / grinder, pestle and mortar, Ultra-Turrax or homogenisator
- shaker
- centrifugal vials + centrifuge or paper filter
- graduated pipettes

5.2. Reagents:

For analysis of raw material

- distilled or deionized water
- skimmed milk powder (food quality) for soy, tannin, and polyphenol containing food
- ethanol solution (60 %), for the extraction of the samples (add 150 ml ethanol p.a. to 100 ml distilled water and shake well)

For analysis of processed food

- distilled or deionized water
- skimmed milk powder (food quality) for tannin and polyphenol containing food
- ethanol solution (80 %), for the extraction of the samples (add 120 ml ethanol p.a. to 30 ml distilled water and shake well)
- Cocktail (patented)** (Art. No. R7006 / R7016) or **RIDA® Cocktail ECO** (R7080)

6. Warnings and precautions for the users

This test should be carried out by trained staff only. The instructions for use must be strictly followed.

This kit may contain further hazardous substances. For hazard notes on the contained substances please refer to the appropriate material safety data sheets (MSDS) for this product, available online at www.r-biopharm.com.

7. Storage instructions

Store the unopened kit at 2 - 8 °C (36 - 46 °F). Do not freeze the kit.

The test strips are very sensitive to humidity that could turn the test useless. For this reason keep the strips away from humidity!

No quality guarantee is furnished after the expiry date on the kit label.

8. Test procedure

Airborne dust and dirty laboratory equipment lead to gluten contamination of the assay. In order to avoid cross-contamination by cereal dust, please note the following points:

- wear gloves before starting and during the assay

- clean surfaces, glass vials, mincers and other equipment with 40 % ethanol or 2-propanol
- for the analysis, the extraction and the test procedure should be carried out in separate rooms

8.1. Swab test: sampling and test implementation

For the AOAC-RI validation stainless steel, sealed ceramic, plastic and silicone rubber were validated (see validation report).

1. Take as many test tubes as surfaces to be analyzed.
2. Place 500 µl of buffer in the test tube.
3. Swab the lower end (reaction zone) of a dry dip stick thoroughly over a sampling area of 10 x 10 cm (wear gloves).



4. Place the dip stick vertically into the test tube with the arrow pointing down. Do not immerse the dip stick beyond the maximum line.
5. Take out the strip after exactly 5 min (+/- 10 s) and read the result using the evaluation card.

8.2. Analysis of cleansing water (CIP water)

For the AOAC-RI validation commercial cleansing solutions and pure water were validated (see validation report).

8.2.1 Cleansing water **without** detergent

1. Take as many test tubes as samples to be analyzed.
2. Place 250 µl of buffer in the test tube
3. Place 250 µl of cleansing water in the test tube and mix gently

4. Place the dip stick vertically into the test tube with the arrow pointing down. Do not immerse the dip stick beyond the maximum line.
5. Take out the strip after exactly 5 min (+/- 10 s) and read the result using the evaluation card.

8.2.2 Cleansing water **with** detergent

1. Take as many test tubes as samples to be analyzed.
2. Place 500 µl of buffer in the test tube.
3. Place 50 µl of cleansing water in the test tube and mix gently
4. Place the dip stick vertically into the test tube with the arrow pointing down. Do not immerse the dip stick beyond the maximum line.
5. Take out the strip after exactly 5 min (+/- 10 s) and read the result using the evaluation card.

8.3. Analysis of food samples

For AOAC OMA (2015.16) validation processed and non-processed corn samples using ethanol and Cocktail (patented) extraction were analyzed (see validation report).

Addition of skimmed milk powder to the sample preparation

Depending on the extraction method, the addition of skimmed milk powder is necessary for some ingredients to avoid unwanted disturbing reactions.

Food ingredient	Ethanol extraction	Cocktail (patented) / RIDA® Cocktail ECO extraction
Soja	1 g skimmed milk powder	—
Tannin- and polyphenol containing food (e.g. chocolate, coffee, cacao, chestnut flour, buckwheat, millet and spices)	1 g skimmed milk powder	0.25 g skimmed milk powder

8.3.1. Extraction with ethanol for raw material (fluid and soft non processed material)

- **fluid raw material:** mix 1 ml of the sample with 9 ml 60 % ethanol solution
- for soy milk/tannin- and polyphenol containing food add additionally 1 g of skimmed milk powder
- **soft raw material:** weigh 1 g of a representative sample and add 10 ml 60 % ethanol solution
- for soy milk/tannin- and polyphenol containing food add additionally 1 g of skimmed milk powder

- shake well for at least 30 sec. (vortex)
- centrifuge: 10 min / at least 2500 g / room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F)
- alternative: let the sample settle down and / or filtrate

8.3.2. Extraction with ethanol for raw material (solid and hard non processed raw material)

- weigh 5 g sample and grind it to powder
- use 1 g of this powder and add 10 ml 60 % ethanol solution (for soy /tannin- and polyphenol containing food add 1 g of skimmed milk powder)
- shake well for at least 30 sec. (vortex)
- centrifuge: 10 min / at least 2500 g / room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F)
- alternatively: let the sample settle down and / or filtrate

8.3.3 Extraction with Cocktail (patented) for processed food

Homogenize well a sufficient amount (at least 50 g or 50 ml) of sample (grind it thoroughly to powder and mix well or mix well the solution respectively).

- liquid food samples:** use 0.25 ml of the homogenized sample (with tannin and polyphenol containing samples add 0.25 g of skimmed milk powder) and add 2.5 ml of the Cocktail (patented), close the vial and mix well
- other food samples (e.g. soya and quinoa containing food):** to 0.25 g of homogenized sample add 2.5 ml of Cocktail (patented), close the vial and mix well
- tannin and polyphenol containing food samples (e.g. chocolate, coffee, cocoa, chestnut flour, buckwheat, millet and spices):** weigh 0.25 g of the homogenized sample, add 0.25 g of skimmed milk powder and add 2.5 ml of the Cocktail (patented), close the vial and mix well
- meat and sausages:** in these matrices gluten may be distributed not evenly, therefore, weigh 50 g sample and homogenize: weigh 0.25 g of the homogenized sample and add 2.5 ml of the Cocktail (patented), close the vial and mix well
- oat samples:** gluten may not be distributed evenly; furthermore the samples are difficult to homogenize. Therefore, homogenize 200 g, then carry out the extraction with at least the fourfold amount of reagents: weigh 1 g of the homogenized sample and add 10 ml of the Cocktail (patented), close the vial and mix well

Please further extract all samples as described in the following:

- incubate for 40 min at 50 °C (122 °F) in the water bath
- let the sample cool down and then mix it with 7.5 ml 80 % ethanol (see 5.2.)
(for oat samples: 30 ml 80% ethanol)
- close the vial and shake for 1 h upside-down or by a rotator at room temperature
(20 - 25 °C / 68 - 77 °F)
- centrifuge: 10 min, at least 2500 g, at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F)
or 2 ml of the extract can be centrifuged with high speed for 10 min in reaction
caps by using a microcentrifuge to obtain a particle free supernatant
(alternatively, the extract can only be filtered)
- put the particle free supernatant in a screw top vial (depending on the sample
the supernatant needs to be filtered too)

Remark: All supernatants / filtrates obtained after centrifugation or filtration can be stored in a tightly closed vial in the dark at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °C) up to four weeks.

8.3.4 Extraction with RIDA[®] Cocktail ECO for processed food

The faster sample preparation using the environmental-friendly **Cocktail ECO** (R7080) is convenient for the screening of samples. The Cocktail ECO has an extraction efficiency of approx. 70 - 110% compared to Cocktail (patented).

Homogenize well a sufficient amount (at least 50 g or 50 ml) of sample (grind it thoroughly to powder and mix well or mix well the solution respectively). Prepare the necessary amount of RIDA[®] Cocktail ECO according to the product information R7080.

- liquid food samples:** use 0.25 ml of the homogenized sample (with tannin and polyphenol containing samples add 0.25 g of skimmed milk powder) and add 2.5 ml of RIDA[®] Cocktail ECO, close the vial and mix well
- other food samples:** to 0.25 g of homogenized sample (e.g. soya and quinoa containing food) add 2.5 ml of RIDA[®] Cocktail ECO, close the vial and mix well
- tannin and polyphenol containing food samples (e.g. chocolate, coffee, cocoa, chestnut flour, buckwheat, millet and spices):** weigh 0.25 g of the homogenized sample, add 0.25 g of skimmed milk powder and add 2.5 ml of RIDA[®] Cocktail ECO, close the vial and mix well

- **meat and sausages:** in these matrices gluten may be distributed not evenly; therefore, weigh 50 g sample and homogenize: weigh 0.25 g of the homogenized sample and add 2.5 ml of the RIDA[®] Cocktail ECO, close the vial and mix well
- **oat samples:** gluten may not be distributed evenly; furthermore the samples are difficult to homogenize. Therefore, homogenize 200 g, then carry out the extraction with at least the fourfold amount of reagents: weigh 1 g of the homogenized sample and add 10 ml of the RIDA[®] Cocktail ECO, close the vial and mix well

Please further extract all samples as described in the following:

- incubate for 10 min at 50 °C (122 °F) in the water bath
- let the sample cool down and then mix it with 7.5 ml 80 % ethanol (see 5.2.) (for oat samples: 30 ml 80% ethanol)
- close the vial and shake for 10 min upside-down or by a rotator at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F)
- centrifuge: 5 min, at least 2500 g, at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) or 2 ml of the extract can be centrifuged with high speed for 5 min in reaction caps by using a microcentrifuge to obtain a particle free supernatant (alternatively, the extract can only be filtered)
- put the particle free supernatant in a screw top vial (depending on the sample the supernatant needs to be filtered too)

Remark: All supernatants / filtrates obtained after centrifugation or filtration can be stored in a tightly closed vial in the dark at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °C) up to two weeks.

8.3.5 Test implementation for raw material and processed food

1. Take as many test tubes as samples to be analyzed.
2. Place 500 µl of buffer in the test tube.
3. Pipette 50 µl of the sample supernatant / filtrate and shake slightly.
4. Place the dip stick vertically into the test tube with the arrow pointing down. Do not immerse the strip beyond the maximum line.
5. Take out the dip stick after exactly 5 min (+/- 10 s) and read the result using the evaluation card.

9. Results

Positive result: two colored bands

The sample is positive if two colored bands (the blue control band and the red test band) are visible within the result window. In the case of swabbing complete test bands with non-uniform intensity may occur due to an inhomogeneous gluten distribution on the surface or different swabbing procedures.

Swab test:	> approx. 1.6 - 3 µg gluten/100 cm ²
Raw material:	> approx. 4.4 mg/kg gluten
Processed food:	> approx. 6.3 mg/kg gluten
Cleansing water (without cleansing reagent):	> approx. 10 ng/ml gluten
Cleansing water (with cleansing reagent):	> approx. 50 - 100 ng/ml gluten

Negative result: only the blue control band

The sample is negative if no red test band is visible within the result window.

Swab test:	< approx. 1.6 - 3 µg gluten/100 cm ²
Raw material:	< approx. 4.4 mg/kg gluten
Processed food:	< approx. 6.3 mg/kg gluten
Cleansing water (without cleansing reagent):	< approx. 10 ng/ml gluten
Cleansing water (with cleansing reagent):	< approx. 50 - 100 ng/ml gluten

Invalid result: no colored band

If no band is visible within the result window after performing the test or if an incomplete test band is visible, the test is considered invalid.

In general

Samples tested negative still may contain gluten contamination below the limit of detection of the assay, or other cereal components like starch for example.

Due to the multitude of food types, matrix effects cannot be excluded. In processed food (e.g. heat treatment, dehydration, etc.), proteins may be altered or fragmented, this may have an impact on the recovery/cross reactivity.

For evaluation of the cross reactivity only one exemplary sample was analyzed, other samples may show a different result. All cross-reactivities and exemplary analysed matrices are described in the updated validation report.

The test strip has been developed for the detection of gluten contamination.

The limit of detection depends on sample type and extraction efficiency or the properties of the swabbed surface and the kind of contamination respectively.

The sample extraction with ethanol should only be used for raw material that were surely not heated and not processed.

A negative result does not necessarily indicate the absence of gluten as gluten may be not homogenously distributed or the level of gluten in the product is below the limit of detection.

Limitations

Cleansing water containing hypochlorite cannot be analyzed. This cleaning agent destroys gluten very quickly in the sample by oxidation. The test strip is not able to detect potentially remaining gluten fragments.

Recommendation

In order to ensure a high analytical performance it is recommended to

- adjust the pH to a neutral value for extremely acidic or alkaline samples
- use assay test controls (R7012, for cocktail extraction) or spiked samples for quality control
- carry out spiking experiments for an accurate and correct procedure
- compare the extraction efficiency of ethanol and RIDA[®] Cocktail ECO (R7080) with the Cocktail (patented) (R7006/R7016)
- use RIDASCREEN[®] Gliadin (Art. No. R7001) for quantification, this test kit is also AOAC-RI and AOAC-OMA (Official Method of Analysis) validated
- perform SureFood[®] PCR to confirm results

For documentation, the upper part of the dip stick marked with “Gluten” together with the test bands must be cut off

Further information, validation data and applications are available on request from your local distributor or R-Biopharm AG.

Further applications:

- Sample preparation for processed food with the RIDA[®] Extraction Solution (colorless) (Art. No. R7098) - **only after validation**
- Sample preparation for polyphenol containing raw material using fish gelatine

The data corresponds to our present state of technology and provides information on our products and their uses. R-Biopharm makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. Defective products will be replaced. There is no warranty of merchantability of this product, or of the fitness of the product for any purpose. R-Biopharm shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.

R-Biopharm AG

Postanschrift / Postal Address:

An der neuen Bergstraße 17

64297 Darmstadt, Germany

Sitz / Corporate Seat: Pfungstadt

Tel.: +49 (0) 61 51 - 81 02-0

Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-40

E-mail: info@r-biopharm.de

www.r-biopharm.com

Vorsitzender des Aufsichtsrats /

Chairman of Supervisory Board:

Dietrich Mollat

Vorstand / Board of Management:

Dr. Ralf M. Dreher (Vorsitzender / Chairman),

Dr. Carsten Bruns, Christian Dreher,

Dr. Hans Frickel, Jochen Hirsch, Dr. Peter Schubert

Handelsregister / Commercial Register:

Amtsgericht Darmstadt HRB 8321