



bioavid Lateral Flow Tests inkl. Hook-Linie BLH-Serie

VERWENDUNGSZWECK

Die bioavid Lateral Flow Tests (LFD; Schnelltest) mit integrierter Hook-Linie sind immunochromatographische Tests für den sensitiven und qualitativen Nachweis von Allergen-Rückständen auf Oberflächen (z. B. in Lebensmittelproduktionslinien), Reinigungs- und Prozesswasser (CIP-Wasser) und Lebensmittelproben. Die integrierte Hook-Linie verhindert eine falsch negative Interpretation von hoch positiven Proben.

Zeitbedarf:

Probenvorbereitung Wischtest.....	ca. 1 min
Probenvorbereitung CIP-Wasser.....	ca. 1 min
Probenvorbereitung (flüssige Proben)	ca. 3 min
Probenvorbereitung (feste Proben)	ca. 5 min
Testdurchführung (Inkubationszeit)	10 min

CIP = Clean-In-Place (Spülwasser aus dem Reinigungsprozess)

NACHWEISGRENZEN

Art. Nr.	Parameter	Limit of detection (LoD)	
		CIP-Wasser ($\mu\text{g/ml}^*$)	Oberflächen ($\mu\text{g/cm}^2$ / $\mu\text{g/ml}^{**}$)
BLH700-15	Kokosnuss	0,1	0,1 / 10
BLH701-15	Mandel	0,1	0,05 / 5
BLH702-15	Paranuss	0,05	0,025 / 25
BLH703-15	Senf	1,0	0,5 / 50
BLH704-15	Haselnuss	0,1	0,05 / 5
BLH705-15	Macadamia	0,5	0,1 / 10
BLH706-15	Erdnuss	0,5	0,02 / 2
BLH707-15	Walnuss	2,0	0,4 / 40
BLH708-15	Ei	0,05	0,05 / 5
BLH709-15	Sesam	0,2	0,02 / 2
BLH710-15	Cashew	0,1	0,08 / 8
BLH711-15	Pistazie	0,1	0,05 / 5
BLH712-15	Soja	0,025	0,05 / 5
BLH714-15	Casein	0,01	0,01 / 1
BLH716-15	Crustaceen	2,0	0,4 / 40

Das Vorhandensein von Reinigern und Desinfektionsmitteln in den Swab- oder CIP-Wasserproben sowie die Art der getesteten Lebensmittelmatrix können die Nachweisgrenze beeinflussen. Detaillierte Informationen sind im Validierungsbericht zu finden.

* $\mu\text{g/ml}$ = ppm = mg/kg

**Umgerechnet anhand der dotierten Fläche von 100 cm^2

HINTERGRUNDINFORMATION

Bei einer Lebensmittelallergie lösen bestimmte Teile eines Lebensmittels (Allergene) beim Menschen eine Immunreaktion aus. Diese Immunreaktion ist Grund für eine Vielzahl an unterschiedlichen Symptomen, welche von mildem Kribbeln im Mund, über Ausschlag bis hin zu einem lebensbedrohlichen anaphylaktischen Schock reichen können. Weltweit leiden ca. 2 - 8 % der Menschen an einer Nahrungsmittelallergie. Da es derzeit keine wirksame Heilung gibt, müssen Lebensmittelallergiker eine Allergen-freie Ernährung einhalten. Daher ist es unerlässlich, dass Allergene auf Lebensmitteln gekennzeichnet werden. Nach der Verordnung (EU) Nr. 1169/2011 müssen die 14 wichtigsten Allergene und deren Produkte auf Lebensmitteletiketten deklariert werden. Ähnliche Regelungen gibt es z. B. in den USA, Kanada, Australien und Neuseeland. Zur Vermeidung unbeabsichtigter Kontaminationen muss in der Lebensmittelindustrie ein entsprechendes Allergenmanagement beachtet werden (z. B. Untersuchung der Rohstoffe, Testung der Produktionslinien), um Kreuzkontaminationen zu verhindern. Lateral Flow Tests sind eine schnelle, einfache und zuverlässige Methode, um Rückstände von Allergenen nachzuweisen. Zusammengefasste Informationen über den Einsatz von LFDs im Rahmen des Allergenmanagements finden Sie in unserer Infografik, die Sie unter www.r-biopharm.com herunterladen können.

HOOK-EFFEKT

Eine große Herausforderung bei der sicheren und schnellen LFD-Analyse sind falsch negative Ergebnisse aufgrund hoher Allergenkonzentrationen in der zu testenden Probe. Der sogenannte „High-Dose-Hook-Effekt“ (oder auch „Overload-Effekt“; Norm EN 15633-1. 2019) tritt auf, wenn eine sehr große Menge eines Analyten in einer Probe vorhanden ist. In diesem Fall kann die Ausbildung der Testlinie verhindert sein und es besteht die Gefahr, dass das Testergebnis fälschlicherweise als negativ (bzw. Analyt nicht nachweisbar) bewertet wird. Durch die auf dem Teststreifen vorhandene Hook-Linie wird dieser Effekt sichtbar. Eine fehlende Hook-Linie weist auf einen hohen Gehalt an Allergen in der Probe hin und kann nicht mehr als negativ bewertet werden (siehe Kapitel 7).

1. TESTPRINZIP

Das Prinzip des Tests ist eine Antigen-Antikörper-Reaktion. Das Reaktionsröhrchen enthält Allergen-spezifische Antikörper. Nach Zugabe von Laufpuffer wird die Probe (z. B. Überstand, Swab Probe, CIP-Wasser) in das Reaktionsröhrchen gegeben. Wenn die Probe das Zielantigen enthält, bildet sich ein Antigen-Antikörper-Komplex. Nach der Inkubation wird ein Teststreifen in das Reaktionsröhrchen gesteckt. Durch die Kapillarkräfte fließt die Flüssigkeit im Teststreifen hoch. Der Teststreifen enthält drei Bereiche, in denen Reaktionen stattfinden und Linien zur visuellen Auswertung entstehen können. Erstens die Kontrolllinie, die zur Überprüfung eines validen Testlaufs dient und jedes Mal erscheinen muss. Zweitens die Testlinie, an der die antigenspezifischen Antikörper immobilisiert sind. Wenn das Zielantigen vorhanden ist, reagieren die zuvor gebildeten Antigen-Antikörper-Komplexe mit den immobilisierten Antikörpern auf der Testlinie, was zur Bildung eines Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplexes führt. Drittens die Hook-Linie, auf der der Zielanalyt immobilisiert ist. Sie erscheint, solange die Zielanalyt-spezifischen Antikörper ungebunden vorhanden sind. Das Ergebnis wird visuell abgelesen. Der Test ist sehr schnell, zuverlässig und erfordert für die meisten Anwendungen keine weitere Ausrüstung.

2. LAGERUNG

Lagern Sie das Testkit bei 2 - 25 °C.

3. PACKUNGSINHALT

Mit den Reagenzien einer Packung können max. 15 Bestimmungen durchgeführt werden. Jedes Testkit enthält:

Komponente	Zustand	Inhalt
Test strip Teststreifen	Gebrauchsfertig in einem Behälter, wiederverschließbar	15 Stück
Reaction vials Reaktionsröhrchen	Enthält markierte Antikörper in stabilisierter getrockneter Form; muss mit Laufpuffer in Lösung gebracht werden	15 Stück
Dropper bottle with running buffer Tropfflasche mit Laufpuffer		8 ml
Positive control Positiv-Kontrolle	Wird in 1 ml destilliertem oder deionisiertem Wasser gelöst	1 Stück
Single-use plastic pipettes Einweg Plastik-Pipetten	Mit 100 µl Markierung	15 Stück
Plastic swabs Plastiktupfer	Zur Probennahme von Oberflächen	16 Stück
Pre-filled PBS vials Vorgefüllte PBS Röhrchen	Enthält 1 ml PBS; benötigt für Wischtest	15 Stück
Evaluation card Auswertekarte		1 Stück

4. VORSICHTSMAßNAHMEN

Das Produkt / der Test ist ausschließlich zur Anwendung im Rahmen der Zweckbestimmung geeignet.

Bei Lagerung im Kühlschrank, das Testkit vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) bringen. Öffnen Sie den Behälter mit den Teststreifen nicht, wenn er kälter ist als die Umgebung, da die Streifen durch kondensierende Feuchtigkeit beschädigt werden.

Einmal entnommene Teststreifen sollten nicht mehr in den Teststreifenbehälter zurückgelegt werden.

Die Teststreifen sind feuchtigkeitsempfindlich. Feuchte Teststreifen können das Ergebnis negativ beeinflussen. Deshalb die Teststreifen erst unmittelbar vor dem Einsatz im Test und nach Erreichen der Raumtemperatur aus der Teststreifenverpackung nehmen.

Nach Ablauf des Verfallsdatums (siehe Testkit-Außenetikett unter Expiration) darf das Testkit nicht mehr verwendet werden.

Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch unter Beachtung des Schutzes von Mensch und Umwelt eigenverantwortlich verwertet oder beseitigt werden. Bitte beachten Sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften (z. B. Kreislaufwirtschaftsgesetz, Gefahrenstoffverordnung, etc.).

5. PROBENVORBEREITUNG

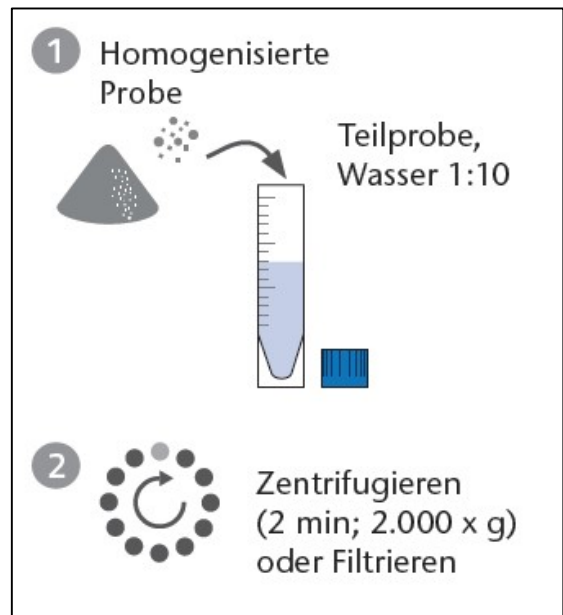
Luftgetragene Allergene und unsaubere Laborausüstung können zu einer Allergen-Kontamination im Test führen. Daher Oberflächen und Arbeitsgeräte (z. B. Schlagmühle, Gefäße) vor und nach jeder Probe gründlich reinigen.

Positiv-Kontrolle (bei Bedarf):

Geben Sie 1 ml destilliertes oder deionisiertes Wasser in die Positiv-Kontrolle und inkubieren sie diese für 5 Minuten. Gut mischen. Anschließend werden 0,1 ml als Probe im Test eingesetzt. Die Positiv-Kontrolle kann bei -20 °C für mindestens ein Jahr gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sollte vermieden werden. Gelöste oder aufgetaute Kontrollen sind bei Raumtemperaturlagerung innerhalb von zwei Tagen zu verwenden.

5.1. Feste Lebensmittelproben:

1. Eine repräsentative Menge der Probe (z. B. 5 - 50 g) gründlich vermischen/zerkleinern/ vermahlen und 1:10 (1+9) in destilliertem oder deionisiertem Wasser auflösen (z. B. 1 g Probe + 9 ml destilliertes oder deionisiertes Wasser). Mischen bis eine gleichmäßige Suspension entstanden ist.
2. 2 Minuten bei 2.000 x g zentrifugieren oder filtrieren. Der Überstand bzw. das Extrakt sollte möglichst partikelfrei sein.



5.2. Flüssige Lebensmittelproben:

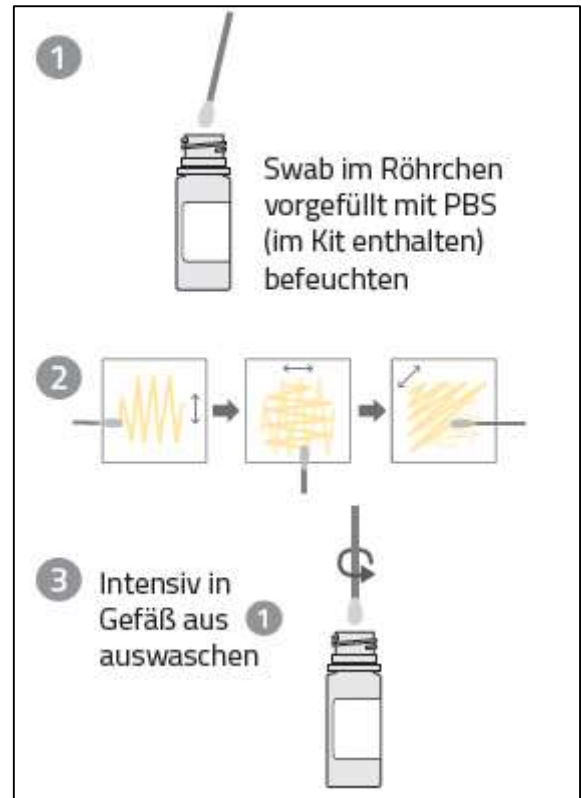
1. Eine repräsentative Menge der Probe (z. B. 5 - 50 ml) gründlich vermischen und 1:10 (1+9) in destilliertem oder deionisiertem Wasser auflösen (z. B. 1 ml Probe + 9 ml destilliertes oder deionisiertes Wasser). Mischen bis eine gleichmäßige Suspension entstanden ist.
2. Ein partikelhaltiger Extrakt sollte für 2 Minuten bei 2.000 x g zentrifugiert oder filtriert werden. Der Überstand bzw. das Extrakt sollte frei von Schwebstoffen sein.

5.3. CIP-Wasser:

1. 0,1 ml des Reinigungs- oder Prozesswassers können direkt im Test verwendet werden.

5.4. Oberflächen (Wischproben):

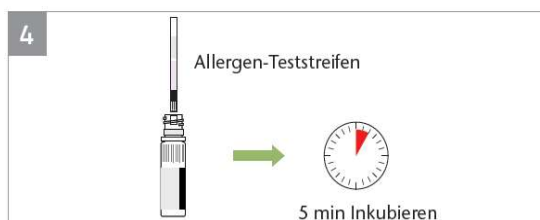
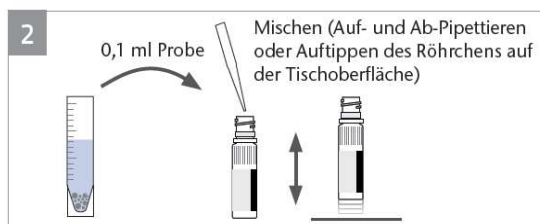
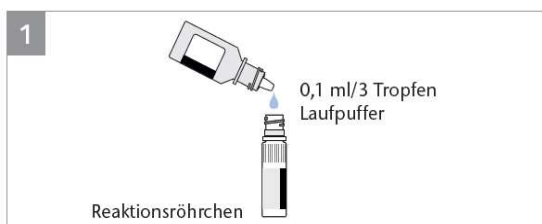
1. Jeweils ein mit PBS-vorgefülltes Röhrchen pro Probe verwenden. Bei trockenen Oberflächen einen sauberen Tupfer mit dem PBS befeuchten.
2. Den zu untersuchenden Bereich mit einer Kreuzschraffur-Technik in allen Richtungen abwischen (siehe Grafik rechts). Empfohlen wird eine Fläche von etwa 10 x 10 cm zu wischen; aber auch eine Probennahme an Problemstellen (z. B. von Geräten) ist möglich.
3. Überführen der Tupferprobe in das Röhrchen aus Schritt 1 und auswaschen: den Tupfer gegen das Röhrchen drücken, vorsichtig drehen und auf- und ab-bewegen.



6. TESTDURCHFÜHRUNG

Die Probennummer auf einem Reaktionsröhrchen notieren und das Röhrchen öffnen.

1. 0,1 ml (3 Tropfen) Laufpuffer in das Reaktionsröhrchen geben.
2. 0,1 ml der Probe (Überstand, CIP-Wasser, Wischprobe) in das Reaktionsröhrchen geben (Einweg-Plastikpipetten mit 0,1 ml Skala sind im Kit enthalten) und den Inhalt durch vorsichtiges Auf- und Ab-Pipettieren (ca. 3-mal) mischen. Alternativ das Röhrchen verschließen und durch vorsichtiges, mehrmaliges Klopfen des Röhrchens auf den Tisch intensiv mischen. Aufgrund der Färbung der Antikörper im Reaktionsröhrchen, sollte sich die Flüssigkeit nach Mischen mit dem Laufpuffer rot verfärben. Nach Hinzufügen der Probe kann in Abhängigkeit von der Färbung der Probe die Rotfärbung aber auch nicht sichtbar sein.
3. Für **5 Minuten** inkubieren.
4. Unmittelbar vor dem Gebrauch den Allergenteststreifen aus dem Streifenbehälter nehmen. Den Behälter sofort wieder verschließen. Den Teststreifen mit den Pfeilen nach unten in das Reaktionsröhrchen stellen.
5. Das Ergebnis nach genau **5 Minuten** ablesen.



7. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Der Allergenteststreifen enthält drei Linien im Reaktionsfeld: Die Kontrolllinie (C, obere Linie), die Hook-Linie (H, mittlere Linie) und die Testlinie (T, untere Linie). Insgesamt können 1 bis 3 violette Linien im Reaktionsfeld des Streifens erscheinen. Die Kontrolllinie (C) zeigt an, dass der Test korrekt durchgeführt wurde und muss daher bei jedem gültigen Testlauf vorhanden sein. Die Testlinie (T) zeigt das Vorhandensein des Zielallergens in der Probe an. Sehr hohe Allergen-Konzentrationen können die Testlinie abschwächen oder ganz unterdrücken. Die Hook-Linie (H) dient als "Alarmlinie". Wenn sie fehlt, ist ein hoher Allergengehalt in der Probe vorhanden. Eine fehlende Testlinie darf in diesem Fall nicht als negatives Ergebnis gewertet werden.



8. GRENZEN DER METHODE

Testergebnisse können in Abhängigkeit von der Testdurchführung und den Laborbedingungen schwanken.

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

Aufgrund der Vielzahl unterschiedlicher Lebensmittel ist es für den Hersteller eines Testkits nicht möglich, sämtliche Lebensmittel für den Test zu validieren. Die Eignung des jeweiligen Lebensmittels für den Einsatz im Test ist vom Anwender selbst zu verifizieren.

Einige feste Proben, die Getreidemehl und/oder Verdickungsmittel enthalten, können das Laufverhalten beeinträchtigen, wenn sie in einer Verdünnung von 1:10 angewendet werden. Daher sollten sehr zähflüssige Proben mit einer Verdünnung von 1:20 getestet werden. Hierbei ist eine geringere Sensitivität aufgrund der höheren Probenverdünnung zu beachten.

Für die Testung von polyphenolhaltigen Proben (z. B. Kaffee, Kakao, Gewürze, Wein) oder von ölhaltigen Proben wird die Nutzung des Absorbent Buffers von bioavid (Art. Nr. BS810-15) empfohlen.

Saure oder basische Proben können das Testsystem beeinträchtigen und sollten vor der Extraktion neutralisiert werden.

Reine Nüsse können die Entwicklung der Hook-Linie stören und sollten gegebenenfalls im Verhältnis 1:20 (anstatt 1:10; siehe 5.1.1) mit destilliertem oder deionisiertem Wasser verdünnt werden. Hierbei ist eine geringere Sensitivität aufgrund der höheren Probenverdünnung zu beachten.

Die bioavid Lateral Flow Tests sind qualitative Tests. Sie erlauben keine Quantifizierung der Testergebnisse auf der Grundlage der Test- oder Hook-Linien-Intensität.

9. HINWEISE

Detaillierte Ergebnisse sowie weitere Informationen entnehmen Sie bitte dem aktuellen Validierungsbericht. Darüber hinaus können Daten aus Laborvergleichsuntersuchungen und Ringversuchen vorliegen.

Für die Verifizierung unbekannter Lebensmittelproben ist eine SOP (Standardarbeitsanweisung) auf Anfrage erhältlich.

10. EMPFEHLUNG

Um eine hohe analytische Sicherheit zu gewährleisten wird empfohlen:

- Die allgemeinen Qualitätssicherungsanforderungen für Laboratorien, wie sie in den Normen EN 15633-1 und 15842 aufgeführt werden, zu befolgen.
- Bei sauren oder basischen Proben den pH-Wert der Probe vor der Extraktion auf neutral (pH 6,5 bis 7,5) einzustellen.
- Nach der Extraktion sollte der pH-Wert überprüft und auf neutral eingestellt werden.

- Zur Prüfung auf richtige und störungsfreie Durchführung der Bestimmung Dotierungsversuche durchzuführen.
- Zur Quantifizierung eines positiven Ergebnisses einen RIDASCREEN® ELISA einzusetzen.
- Zur Abklärung unerwarteter Ergebnisse die Probe mit einem RIDASCREEN® ELISA oder mittels PCR (z. B. SureFood®) zu untersuchen.
- Zur einfachen und schnellen Dokumentation der Teststreifen die im Google Play Store kostenfrei zur Verfügung stehende Dokumentations-App „RIDA®SMART APP Allergen“ zu verwenden (nur für Android-Geräte).

Versionsübersicht

Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2023-02-01	Freigabeversion
2023-07-18	Vorversion
2023-10-20	Vorversion
2024-02-27	Vorversion
2024-07-30	Vorversion
2024-10-14	Vorversion
2024-11-06	Aktuelle Version Vorgenommene Änderungen <ul style="list-style-type: none"> - Korrektur der Tabelle „Nachweisgrenze“ bei Soja und Pistazie (nur im englischen Teil)

1 Probenvorbereitung

Wischproben	oder	CIP-Wasser	oder	Feste Proben
<p>1 Röhrchen vorgefüllt mit PBS (im Kit enthalten)</p> <p>2 </p> <p>3 Intensiv in Gefäß aus 1 auswaschen </p>		<p></p> <p>Kann direkt im Test verwendet werden</p>		<p>1 Homogenisierte Probe Teilprobe, Wasser 1:10</p> <p>2 Zentrifugieren (2 min; 2.000 x g) oder Filtrieren</p>



2 Testdurchführung

<p>1 0,1 ml/3 Tropfen Laufpuffer</p> <p>Reaktionsröhrchen</p>	<p>2 0,1 ml Probe</p> <p>Mischen (Auf- und Ab-Pipettieren oder Auftippen des Röhrchens auf der Tischoberfläche)</p>
<p>3 </p> <p>5 min Inkubieren</p>	<p>4 Allergen-Teststreifen</p> <p></p> <p>5 min Inkubieren</p>
<p>5 </p> <p>Ergebnis ablesen</p>	

Haftungsausschluss

1. R-Biopharm AG leistet für Sach- und Rechtsmängel über einen Zeitraum von 12 Monaten (bzw. im Falle von Produkten, die eine kürzere Haltbarkeit haben, bis zum Ablauf des Haltbarkeitsdatums) Gewähr, gerechnet vom Tag des Gefahrübergangs, vorbehaltlich einer frist- und formgerechten Rüge durch den Kunden, wobei die vereinbarte Beschaffenheit und Eignung für die vertraglich vorausgesetzte Verwendung und Übergabe mit vereinbartem Zubehör und vereinbarten Anleitungen („subjektiven Anforderungen“) entscheiden, ob eine Sache mangelhaft ist.
2. Insbesondere erstreckt sich die Gewährleistung und die sich hieraus ergebende Haftung aufgrund Pflichtverletzung wegen Schlechtleistung nicht auf Folgen, die nicht nachweisbar auf fehlerhaftem Material, Konstruktion, Herstellerstoffen, Nutzungsleistungen, oder fehlerhafter Ausführung beruhen, und auch nicht auf die Folgen fehlerhafter Benutzung oder ungeeigneter Lagerung oder chemischer, elektromagnetischer, mechanischer oder elektrolytischer Einflüsse, die von vereinbarten Produktspezifikationen, Produktbeschreibungen oder in dem jeweils produktspezifischen Datenblatt der R-Biopharm AG oder herstellerseits vorgesehenen durchschnittlichen Standardeinflüssen abweichen.
3. R-Biopharm AG übernimmt auch keine Gewährleistung für nicht von R-Biopharm AG vollzogenen Veränderungen, Bearbeitungen, Nutzungen oder Verarbeitungen, die nicht dem vertraglich vereinbarten Bestimmungszweck der Produkte entsprechen oder mit der allgemeinen Produktsicherheit vereinbar sind.
4. Die Haftung der R-Biopharm AG für die leicht fahrlässige Verletzung wesentlicher Vertragspflichten (Pflichten, die für die Erreichung des Vertragszwecks wesentlich sind und auf deren Einhaltung der Vertragspartner regelmäßig vertrauen darf) ist auf den vertragstypisch vorhersehbaren Schaden begrenzt; die Haftung der R-Biopharm AG für die leicht fahrlässige Verletzung anderer Pflichtverletzungen ist ausgeschlossen.
5. Ziff. 1-4 gelten nicht bei Arglist, grober Fahrlässigkeit oder Vorsatz der R-Biopharm AG oder Verletzung von Leib, Leben oder Gesundheit, der Übernahme einer Garantie, eines Beschaffungsrisikos nach § 276 BGB oder einer Haftung nach einem gesetzlich zwingenden Haftungstatbestand oder soweit sonst gesetzlich eine längere Verjährungsfrist zwingend festgesetzt ist. § 305 b BGB (der Vorrang der Individualabrede in mündlicher oder textlicher oder schriftlicher Form) bleibt unberührt. Eine Umkehr der Beweislast ist mit der vorstehenden Regelung nicht verbunden.

bioavid Lateral Flow tests incl. Hook Line BLH-Line

INTENDED USE

The bioavid lateral flow tests with included hook line are immunochromatographic tests for the sensitive and qualitative detection of allergen residues on surfaces (e.g. swab test for the hygiene control in food production lines), in cleansing and process water (CIP water) and food samples. The integrated hook line prevents false negative interpretation of high positive samples.

Time requirement:

Sample preparation swab test	approx. 1 min
Sample preparation CIP water.....	approx. 1 min
Sample preparation (liquid samples)	approx. 3 min
Sample preparation (solid samples)	approx. 5 min
Test implementation (incubation time).....	10 min

CIP = Clean-In-Place (rinse water from cleaning process)

LIMIT OF DETECTION:

Art. No.	Parameter	Limit of detection (LoD)	
		CIP water ($\mu\text{g/mL}^*$)	Surfaces ($\mu\text{g/cm}^2$ / $\mu\text{g/mL}^{**}$)
BLH700-15	Coconut	0.1	0.1 / 10
BLH701-15	Almond	0.1	0.05 / 5
BLH702-15	Brazil nut	0.05	0.025 / 25
BLH703-15	Mustard	1.0	0.5 / 50
BLH704-15	Hazelnut	0.1	0.05 / 5
BLH705-15	Macadamia	0.5	0.1 / 10
BLH706-15	Peanut	0.5	0.02 / 2
BLH707-15	Walnut	2.0	0.4 / 40
BLH708-15	Egg	0.05	0.05 / 5
BLH709-15	Sesame	0.2	0.02 / 2
BLH710-15	Cashew	0.1	0.08
BLH711-15	Pistachio	0.1	0.05 / 5
BLH712-15	Soy	0.025	0.05 / 5
BLH714-15	Casein	0.01	0.01 / 1
BLH716-15	Crustacean	2.0	0.4 / 40

The presence of cleaners and sanitizers in the swab or CIP water sample, as well the type of food matrix being tested, can affect limit of detection. Detailed information can be found in the validation report.

* $\mu\text{g/mL}$ = ppm = mg/kg

**Converted according to spiked surface area of 100 cm^2

BACKGROUND INFORMATION

In the case of a food allergy, certain parts of a food (allergens) trigger an immune reaction in humans. This immune reaction is the cause of a variety of different symptoms, which can range from mild tingling in the mouth, to rash, to a life-threatening anaphylactic shock. Worldwide, about 2 - 8 % of people suffer from a food allergy. Since there is currently no effective therapy for food allergies, sensitized persons must follow an allergen-free diet. Therefore, labelling allergens on food is essential. According to Regulation (EU) No. 1169/2011, the 14 most important allergens and their products must be declared on food labels. Similar regulations exist e.g. in the USA, Canada, Australia and New Zealand. For prevention of unintended contamination, food industry must consider a respective allergen management (e.g. testing of raw materials, checking production lines). Lateral flows offer a fast, easy and reliable method for the detection of allergen residues. Summarized information about the usage of LFDs within an allergen management can be found on our infographic, which can be downloaded on www.r-biopharm.com.

HOOK EFFECT

One of the most important challenges with the safe and fast LFD analysis are false negative results due to very high allergen concentrations in the test sample. The so-called “high dose hook effect” (or “overload effect”; Standard EN 15633-1. 2019) is observed when a very high amount of an analyte is present in the sample. In this case, the development of the test line can be inhibited and there is a risk that the test result will be falsely evaluated as negative (or analyte undetectable). The hook line on the test strip makes this effect visible. A missing hook line indicates a high allergen content in the sample and can no longer be evaluated as negative (see chapter 7).

1. TEST PRINCIPLE

The principle of the test is an antigen-antibody reaction. The reaction vial contains allergen-specific antibodies. After addition of running buffer, the sample (e.g. supernatant, swab sample, CIP water) is added to the reaction vial. If the sample contains the target antigen, an antigen-antibody complex will form. After incubation, a dip stick is placed into the reaction vial. Capillary forces cause the liquid to flow up the dip stick. The dip stick contains three areas, where reactions take place and lines for visual evaluation can form. First, the control line in order to verify the test run, which should appear every time.

Second, the test line, where antigen-specific antibodies are immobilized. If target antigen is present, the previously formed antigen-antibody complexes react with the immobilized antibodies on the test line resulting in the formation of an antibody-antigen-antibody complex. Third, the hook line, where target analyte is immobilized and will appear, as long as target-analyte-specific antibodies are present unbound. The result is read visually. The test is very rapid, reliable and does not require laboratory equipment for most applications.

2. STORAGE

Store the test kit at 2 - 25 °C (35 - 77 °F).

3. REAGENTS PROVIDED

Each kit contains sufficient materials for 15 determinations. Each test kit contains:

Component	Format	Content
Test strip	Ready to use in a container, resealable	15 pieces
Reaction vials	Contains labelled antibodies in stabilized dried form; needs to be dissolved with running buffer	15 pieces
Dropper bottle with running buffer		8 mL
Positive control	Needs to be dissolved with 1 mL distilled or deionized water	1 pieces
Single-use plastic pipettes	With 100 µL mark	15 pieces
Plastic swabs	For sampling surfaces	16 pieces
Pre-filled PBS vials	Contains 1 mL PBS; required for swab test	15 pieces
Evaluation card		1 piece

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS FOR THE USERS

The product / test is only suitable within the scope of its intended use.

If stored in a refrigerator, bring the test kit to room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F) before use. Do not open the tube with test strips when it is colder than the environment, since strip deterioration may result from moisture.

Once removed, test strips should not be returned to the test strip tube.

The test strips are sensitive to moisture and must be absolutely protected against it. Moist test strips can have a negative impact on the result. For this reason, remove the test strips from packaging only after having reached room temperature and immediately prior to use in the test.

Do not use the test kit after the expiration date (see test kit label).

All reagents and materials must be recovered or disposed after use at customers own responsibility according to the protection of human health and the environment. Please observe the applicable national regulations concerning waste disposal (e.g. Waste Management Act, Regulations on Dangerous Chemicals, etc.).

5. PREPARATION OF SAMPLES

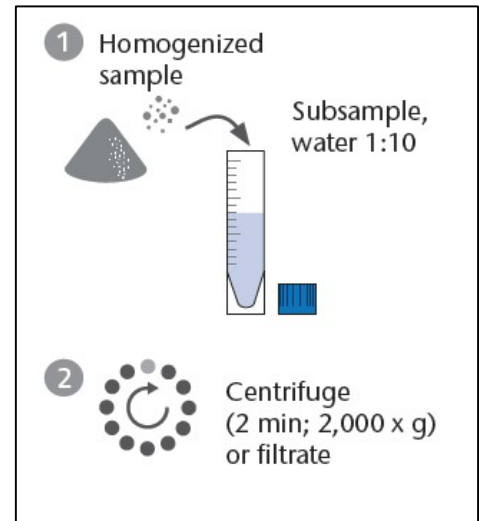
Airborne allergens and dirty laboratory equipment lead to contamination of the assay. Therefore, clean surfaces and equipment (e.g. mincers, vessels) thoroughly before and after each sample.

Positive control (if needed):

Add 1 mL distilled or deionized water to the positive control and leave for 5 minutes. Mix well. Then apply 0.1 mL as a sample into the assay. The positive control can be stored at -20 °C (-4 °F) for at least one year. Do not repeatedly freeze and thaw. Dissolved or thawed controls are stable for 2 days at room temperature (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).

5.1. Solid food samples:

1. Grind/mix a representative amount of sample (e.g. 5 - 50 g) thoroughly and dissolve the sample 1:10 (1+9) in distilled or deionized water (e.g. 1 g sample + 9 mL distilled or deionized water). Mix until a uniform suspension is obtained.
2. Centrifuge 2 min at 2,000 x g or filter. The supernatant or extract should be as particle-free as possible.



5.2. Liquid food samples:

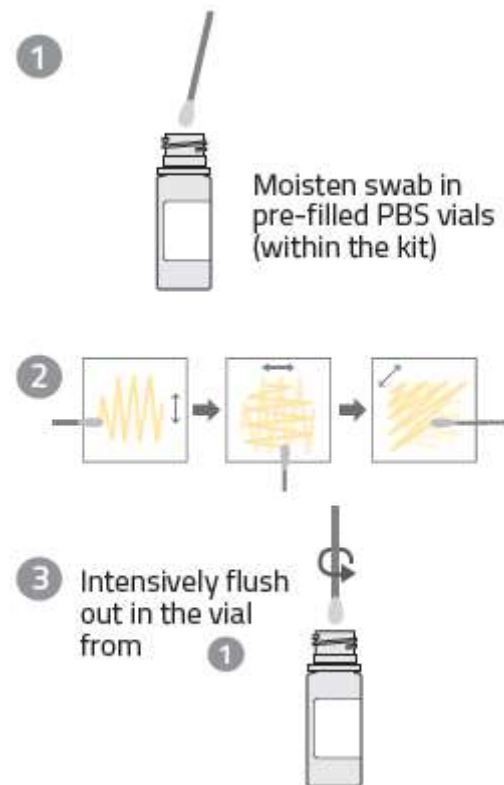
1. Mix a representative amount of sample (e.g. 5 - 50 mL) thoroughly and dissolve the sample 1:10 (1+9) in distilled or deionized water (e.g. 1 mL sample + 9 mL distilled or deionized water). Mix until a uniform suspension is obtained.
2. Particle-containing extracts should be centrifuged for 2 min at 2,000 x g or filtered. The supernatant or extract should be free of suspended solids.

5.3. CIP water:

1. 0.1 mL of cleansing or process water (CIP water) can directly be used in the assay.

5.4. Surfaces (swab samples):

1. Use one vial (pre-filled with PBS) per sample. Moisten a clean cotton swab with the contained PBS.
2. Swab the area of interest with a crosshatch technique in all directions (see graphic on the right). An area of about 10 x 10 cm is recommended, but it is also possible to take samples from trouble spots (e.g. equipment).
3. Release the sample from the swab into the vial from step 1: squeeze the swab against the vial, carefully rotate and move up and down.

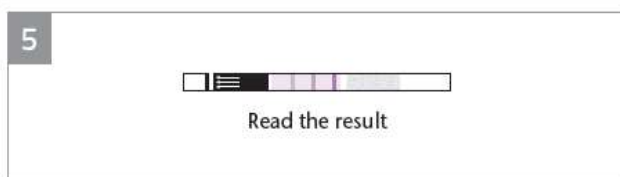
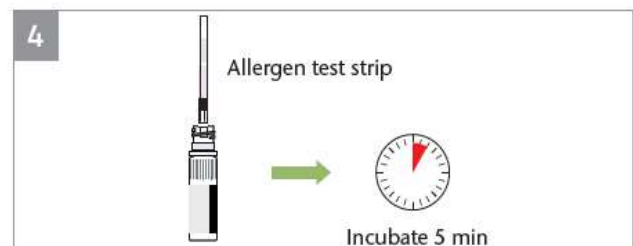
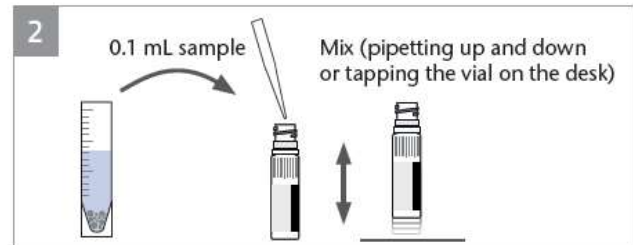
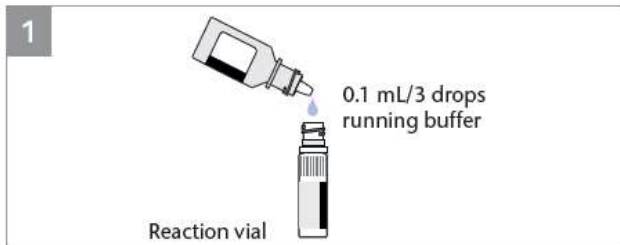


6. ASSAY

Note the sample ID on a reaction vial and open it.

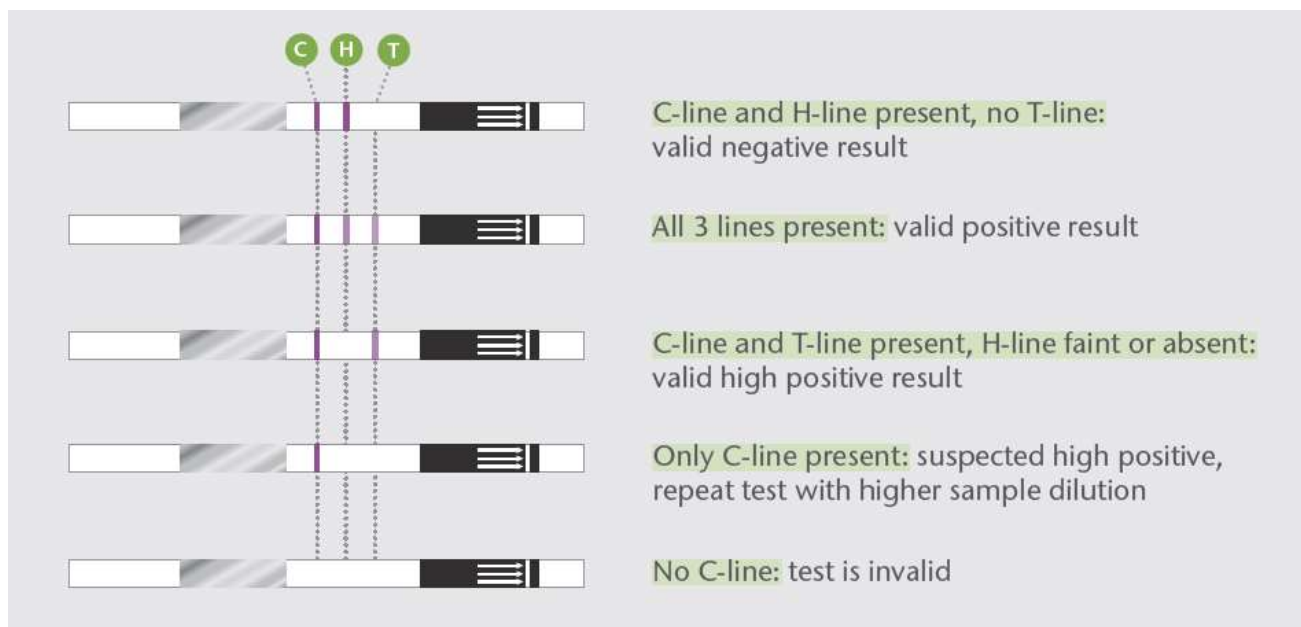
1. Add 0.1 mL (3 drops) of running buffer into the reaction vial.
2. Add 0.1 mL of sample (supernatant, CIP water or swab sample) into the reaction vial (single-use plastic pipettes with 0.1 mL scale are contained in the kit) and mix the content by carefully pipetting up and down (approx. 3-times) or close the reaction vial and mix intensively by carefully tapping the vial on the desk a few times. Due to the coloration of the antibodies in the reaction vial, the liquid should turn red when mixing only with the running buffer. However, after adding the sample, depending on the coloration of the sample, the red color may not be visible.
3. Incubate for **5 minutes**.

4. Immediately before use, take an allergen test strip out of the test strip tube. Immediately close the test strip tube again. Insert the test strip with the arrows pointing down into the reaction vial.
5. Read the result at **5 minutes**.



7. INTERPRETATION OF THE RESULT

The allergen test strip includes three lines in the reaction field: the control line (C, top line), the hook line (H, middle line) and the test line (T, lowest line). In total, 1 to 3 purple lines may appear in the reaction field on the test strip. The control line (C) indicates that the test has been performed correctly and consequently must be present on every valid test strip. The test line (T) indicates the presence of the target residue in the sample. Very high concentrations of allergen residues may reduce the intensity of the test line or suppress its formation completely. The hook line (H) serves as an “alarm line”. If it is missing, a high content of allergen is present in the sample. In this case, a missing test line must not be interpreted as a negative result.



8. LIMITATION

Test results may vary depending on the actual test procedure and the laboratory environment.

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

Due to the large amount of different foods, it is not possible for the manufacturer of a test kit to validate all foods for the test. The suitability of the respective food for use in the test must be verified by the user himself.

Some solid samples containing cereal flour and/or thickeners may impact the running behavior if applied in a 1:10 dilution. Thus, very viscous samples should be tested in a 1:20 dilution. In this case, lower sensitivity should be noted due to higher sample dilution.

For testing samples containing polyphenols (e.g. coffee, cocoa, spices, wine) or samples containing high amounts of oil the use of the Absorbent Buffer from bioavid (Art. No. BS810-15) is recommended.

Strongly acidic or basic samples can impair the test system and should be neutralized before extraction.

Pure nuts interfere with the development of the hook line and must be diluted 1:20 (instead of 1:10) with distilled or deionized water. In this case, lower sensitivity should be noted due to higher sample dilution.

Bioavid lateral flow tests are qualitative tests. They do not allow quantitation of the test results based on test or hook line intensity.

9. NOTES

For detailed results and further information please refer to the current validation report. In addition, data may be available from comparative laboratory tests and interlaboratory comparisons.

For verification of unknown food samples, an SOP (Standard Operating Procedure) is available upon request.

10. RECOMMENDATION

In order to ensure a high analytical performance we recommend:

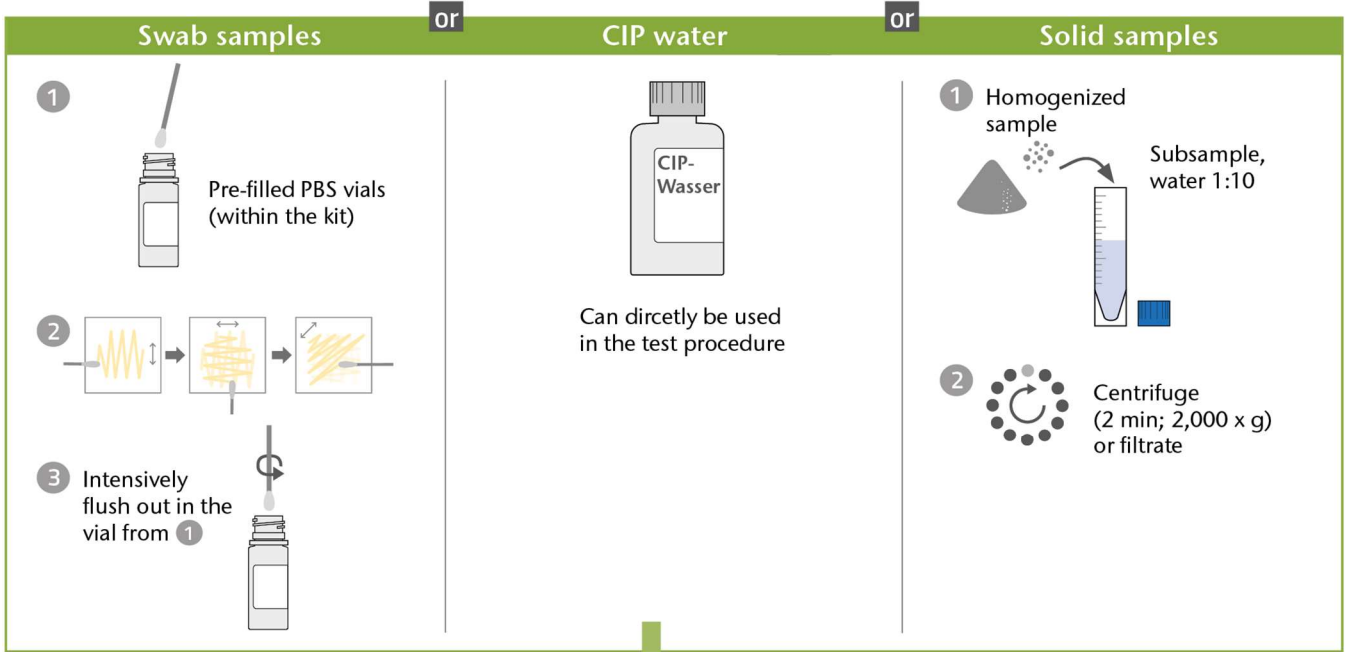
- To comply with the general quality assurance requirements for laboratories as listed in the standards EN 15633-1 and 15842.
- To adjust the sample's pH value to neutral (pH 6.5 to 7.5) prior to extraction in case of extremely acidic or basic samples.
- To verify and adjust the sample's pH value to neutral after extraction.
- To do spike experiments to ensure an accurate and correct test procedure.
- To use a RIDASCREEN® ELISA for quantification of a positive result.

- To clear unexpected results, use the ELISA RIDASCREEN® or run a PCR (e.g. SureFood®).
- For quick and easy documentation of the test strips, use the “RIDA®SMART APP Allergen” documentation app available free of charge in the Google Play Store (only for Android devices).

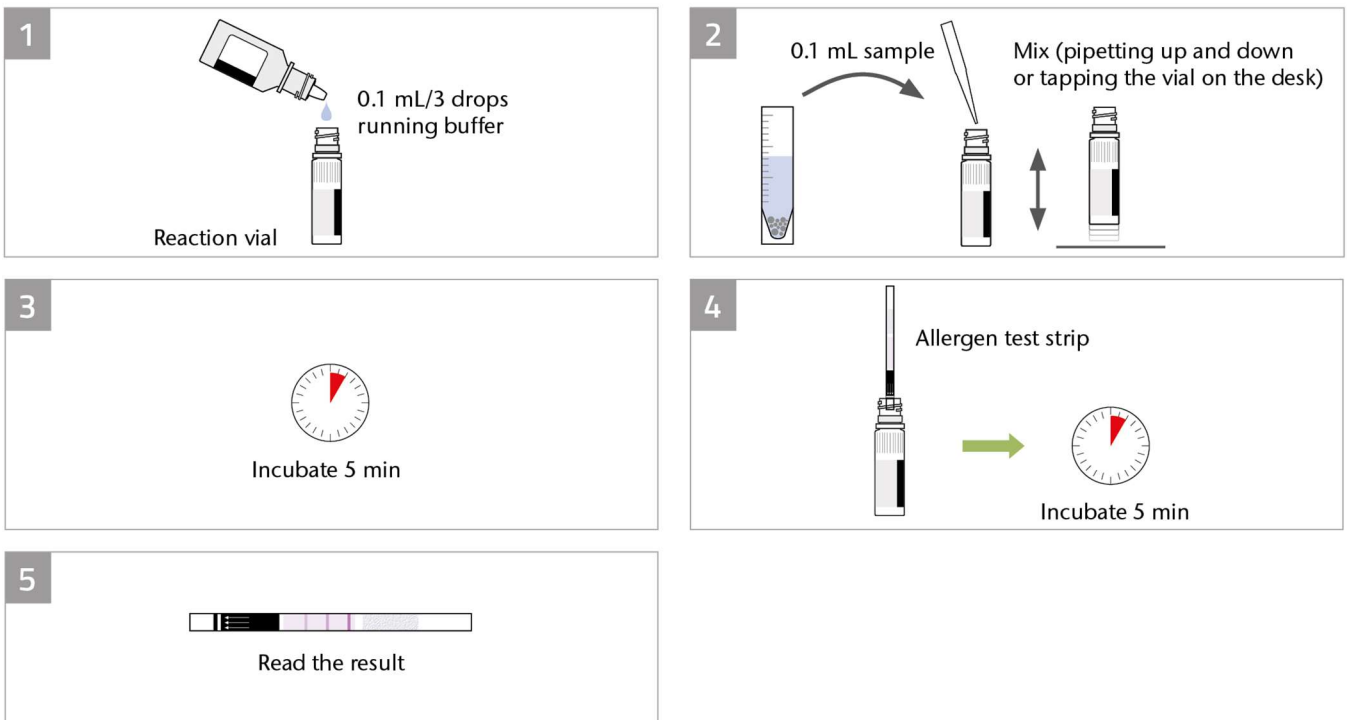
Version overview

Version number	Chapter and title
2023-02-01	Release version
2023-07-18	Revision
2023-10-20	Revision
2024-02-27	Revision
2024-07-30	Revision
2024-10-14	Revision
2024-11-06	Current version Changes made: <ul style="list-style-type: none"> – Correction of the “Limit of detection” table for soy and pistachio (only in the English version)

1 Sample preparation



2 Test procedure



Disclaimer

1. In conformance with the German Civil Code (“BGB”) R-Biopharm AG provides a limited warranty (“Gewährleistung”) against defects in design and manufacture present at delivery that make the Product unsuitable or unsafe for the contractually specified Product use and location through properly qualified personnel. Such limited warranty warrants Product title and against such material Product defects for 12 months, or if the Product is provided with a shelf life, the length of the declared shelf life, calculated from the date of risk transfer pursuant to delivery terms, and further provided customer provides timely and proper notice of the defect.
ALL OTHER WARRANTIES OR GUARANTIES, EXPRESS OR IMPLIED, OF ANY KIND ARE EXCLUDED, WHETHER IMPLIED BY CUSTOM, PRACTICE, THE COURSE OF DEALING BETWEEN THE PARTIES OR OTHERWISE. The responsibility for any express or implied warranties or extensions of R-Biopharm’s own warranty made by dealers, distributors, or resellers is solely with such dealer, distributor, or reseller, and R-Biopharm AG expressly disclaims liability for such warranties.
2. R-Biopharm Products are designed for sole use by properly trained and qualified personnel applying appropriate industry standards and practices. Defects are covered only to the extent that such defects are demonstrably the result of defective material, design, parts, or faulty workmanship, which affect safety or result in substandard performance below specifications. R-Biopharm AG is not liable for any improper use nor the consequences of
 - a. the failure to read, understand and follow use and safety instructions, or use proper preparation and storage;
 - b. the failure to utilize trained and unqualified personnel, suitable samples or sampling techniques;
 - c. chemical, electromagnetic, mechanical, or electrolytic influences outside R-Biopharm AG provided standard perimeters through product specific data sheets, written product descriptions, or as otherwise expressly agreed upon in writing; or
 - d. any combination thereof.
3. R-Biopharm AG is also not liable for any changes or modifications, not carried out by R-Biopharm AG, nor consequences of use, applications, or processing which are unsafe or otherwise inconsistent with intended Product purpose as limited by written Product descriptions and specifications of R-Biopharm AG.
4. R-Biopharm AG’s liability for ordinary breach of contract is limited to repair, replacement, other substitute performance, or refund. The choice of remedies is within R-Biopharm AG’s sole discretion. R-Biopharm AG is not contractually liable for any incidental, or consequential damages, including but not limited to purchaser’s expenses, losses, or damages from loss of good will, frustrated business purposes, sales expectations, investment loss, actual or anticipated lost profits, End User indemnity, or any other business expenditures.
5. The foregoing limited warranty is solely intended to fulfill the warranty requirements (“Gewährleistung”) implied by German Civil Code. It is not intended to extend the scope or period of such Gewährleistung or provide additional warranties. Nor is this Disclaimer otherwise intended to limit or extent mandatory liability for damages in tort resulting from injury to life, body, or health, for intentional or grossly negligent acts, fraud, or due to strict liability under applicable product liability laws. A reversal of the burden of proof or rules of contract interpretation is not intended.