



# SureFood® Allergen Kits

Qualitative und quantitative real-time PCR-Analytik

- 4plex Allergen Testkits
- Quantifizierung
- Qualitative Bestimmung
- Kennzeichnungspflicht



## Allergenanalytik mit real-time PCR

Lebensmittelallergien sind eine spezielle Lebensmittelunverträglichkeit, bei der Proteine bzw. Substanzen eine immunologische Reaktion auslösen können. Diese kann zu anaphylaktischen Schocks führen und in einzelnen besonders schweren Fällen tödlich verlaufen.

Auslöser für eine allergische Reaktion sind nicht Nukleotide (DNA), sondern primär allergene Proteine. Zum Schutz der Verbraucher ist entsprechend der EU-Richtlinie 2007/68/EC auf dem Lebensmittelprodukt nicht das allergene Protein oder Fragment zu kennzeichnen, sondern die **Lebensmittelzutat**.

Dies bedeutet, dass verschiedene analytische Methoden verwendet werden können. Bei Nachweis der aufgelisteten Zutat muss das Lebensmittelprodukt gekennzeichnet werden, sofern es nicht in definierten Ausnahmeregelungen prozesstechnisch weitestgehend entfernt wird (z.B. bei Destillaten oder Extrakten).

### Kennzeichnungspflichtig sind:

1. Glutenhaltige Getreide (d. h. Weizen, Roggen, Gerste, Hafer, Dinkel, Kamut oder deren Hybridstämme) und daraus gewonnene Erzeugnisse\*
2. Krebstiere und daraus gewonnene Erzeugnisse\*
3. Eier und daraus gewonnene Erzeugnisse\*
4. Fische und daraus gewonnene Erzeugnisse\*
5. Erdnüsse und daraus gewonnene Erzeugnisse\*
6. Sojabohnen und daraus gewonnene Erzeugnisse\*
7. Milch und daraus gewonnene Erzeugnisse (einschließlich Laktose)\*
8. Schalenfrüchte, d. h. Mandeln, Haselnüsse, Walnüsse, Cashewkerne, Pekannüsse, Paranüsse, Pistazien, Makadamianüsse und Queenslandnüsse und daraus gewonnene Erzeugnisse\*
9. Sellerie und daraus gewonnene Erzeugnisse\*

10. Senf und daraus gewonnene Erzeugnisse\*
11. Sesamsamen und daraus gewonnene Erzeugnisse\*
12. Schwefeldioxid und Sulfite in Konzentrationen von mehr als 10 mg/kg oder 10 mg/l, ausgedrückt als SO<sub>2</sub>
13. Lupinen und daraus gewonnene Erzeugnisse\*
14. Weichtiere und daraus gewonnene Erzeugnisse\*

### Referenz:

Anhang 3 der EU 2007/68/ Richtlinie  
Anhang 2 der EU 2011/1169/ Richtlinie

\* Ausnahmeregelung bestimmter Matrices

In anderen Regionen existieren unterschiedliche Regelungen wie z.B. die als in den USA bekannten „big eight“ und weiteren Ländern nach FALCPA zu kennzeichnenden Parameter: Krustentiere, Eier, Milch, Erdnüsse, Baumnüsse, Weizen, Soja, Schwefeldioxid.

Die Produkte Ei und Milch können nicht mittels real-time PCR nachgewiesen, jedoch mit

immunologischen Methoden (ELISA, Lateral Flow) bestimmt werden. Stark prozessierte und/oder aufgereinigte Produkte, die keine oder nur noch wenig DNA enthalten, wie z.B. Pflanzenöle, Gelatine, Lecithin oder Stärke sind nur bedingt oder nicht für die PCR-Analytik geeignet. Schwefeldioxid kann zum Beispiel enzymatisch nachgewiesen werden.



SureFood® ALLERGEN Celery,  
Art. Nr. S3605



SureFood® ALLERGEN 4plex Macadamia/Brazil Nut/  
Pecan + IAC, Art. Nr. S3403

# Qualitative and quantitative Analytik

Die zweite Generation der Allergenkits enthält eine interne Amplifikationskontrolle (IAC; FAM/HEX) und kann sowohl zur qualitativen wie quantitativen Bestimmung (mit Standards) verwendet werden.

## DNA-Präparation – PREP Advanced

100 mg einer zu untersuchenden Substanz wird in 580 µl Lysis Puffer mit 20 µl Proteinase K bei 65 °C für eine Stunde lysiert. Nach Zentrifugation und Filtration über einen Spinfilter wird die DNA an die Trägermatrix des Spinfilters gebunden, dieser mehrfach mit Waschpuffer gewaschen und mit 50 µl Elutionspuffer eluiert.

## Qualitative Analytik

Die DNA wird in einem zweistufigen Thermoprofil (z.B. für Blockcycler: 5 Min. 95 °C, 15 Sek. 95° C, 30 Sek. 60 °C) für 45 Zyklen amplifiziert. Qualitative Tests sind positiv, wenn eine exponentielle Kurve und ein Ct-Wert angezeigt werden.

## Quantitative Analytik

Für eine von industriellen Produzenten gewünschte Risikobewertung, wie sie in standardisierter Form im VITAL 2.0 Konzept (Voluntary Incidental Trace Allergen Labelling) vorliegt, werden quantitative Werte benötigt.

Aufgrund der Linearität der qPCR lassen sich Proben mit Hilfe von DNA-Standards, die in einer seriellen Verdünnungsreihe mitgemessen werden, in der quantitativen Einheit von DNA-Kopien ermitteln.

Durch gleichzeitiges Vermessen einer standardisierten Probe, dem SureFood®QUANTARD Allergen 40, kann das erhaltene Resultat in die benötigte Einheit mg/kg oder ppm umgerechnet werden. Das Kalibriermaterial SureFood®QUANTARD Allergen 40 besteht aus Maismehlpulver, in welches je 40 ppm der wichtigsten allergenen Substanzen homogenisiert wurde. Damit kann es als universelle Kalibriersubstanz verwendet werden. Alternativ kann sich der Anwender matrixspezifisches Kalibriermaterial erstellen.

Die Auswertung erfolgt mit einer vorgefertigten Excel-Tabelle.

**Fig. 1: SureFood® ALLERGEN QUANT Excel-Tabelle zur Auswertung**

Hinweise   Instructions	
Bitte entsprechende Werte in blaue Felder eintragen	Please fill in respective values in blue cells
Entnehmen Sie die Ergebnisse den grünen Feldern	Please read results in green cells
Optionale Information	Optionale Daten
Optional information	Optional data

  

Datum   Date:			
Bearbeiter (Kürzel)   Operator (code):			
Parameter / Bestellnr.   Parameter / product code:			
Lot-nr.   Lot no.:			
Verfallsdatum   Expiry date:			
PCR Gerät   PCR device:			
Steigung   Slope:			
Achsenabschnitt   axis intercept:			
Konzentration Referenz* [ppm**]   Concentration reference sample* [ppm**]:			
Ct Referenz 1*   Ct Reference 1*:			
Ct Referenz 2*   Ct Reference 2*:			
Ø (Mittelwert) Ct Referenz*   Ø (mean) Ct Reference*:			
Probenr.   Sample no.	Probenbezeichnung   sample identification	Ct Probe   Ct sample	Konzentration Probe [ppm**]   concentration sample [ppm**]
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			

**Tabelle 1: Inhaltsstoffe SureFood® QUANTARD Allergen 40 nach EU-Direktive 2007/68/EC**

Allergen Substanz	Lebensmittel	Allergen Substanz	Lebensmittel
Glutenhaltige Getreide	Weizenmehl Typ 405	Nüsse	Haselnüsse, Mandeln, Walnüsse, Cashewkerne, Pekannüsse, Paranüsse, Pistazien, Makadamianüsse
Krustentiere	Riesengarnelenschwänze	Sellerie	Selleriesamen
Ei	Eiweißpulver (Huhn)	Senf	Senfkörner, gelb
Fisch	Wildlachs	Sesam	Sesamsaat
Erdnuss	Erdnüsse	Lupine	Lupinensamen
Soya	Soyabohnen		
Milch	Milchpulver (Kuh)		

## Multiplex – schneller Überblick durch 4plex Screening

Ein schnelles umfassenderes Screening wird durch 4plex Systeme ermöglicht. In nur einer Messung können drei Parameter gleichzeitig analysiert werden. Zusätzlich bietet die interne Amplifikationskontrolle (IAC) eine Inhibitionskontrolle jeder Probe ohne zusätzlichen Mehraufwand.

### SureFood® ALLERGEN 4plex

Kanal	S3401	S3402	S3403
FAM	Senf	Erdnuss	Macadamia
Cy5	Soja	Haselnuss	Paranuss
ROX	Sellerie	Walnuss	Pekannuss
VIC/HEX	IAC	IAC	IAC

## SureFood® ALLERGEN Kits

Produkt	Beschreibung	Packungsgröße	Art. Nr.
<b>SureFood® PREP</b>			
Advanced	Zur Präparation stark prozessierter Lebens- und Futtermittel	50 Präparationen	S1053
<b>Extraktionskontrolle</b>			
SureFast® Animal+Plant Control 3plex	Extraktionskontrolle für Pflanzen- oder Tiermatrizes inkl. interner Kontroll-DNA (ICD)	100 Reaktionen	S4053
<b>SureFood® ALLERGEN – qualitative und/oder quantitative real-time PCR</b>			
Gluten	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3606
Soya	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3601
Almond	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3604
Brazil nut	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3617
Cashew	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3615
Haselnut	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3602
Macadamia	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3616
Peanut	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3603
Pecan	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3618
Pistachio	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3614
Walnut	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3607
Sesame	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3608
Crustaceans	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3612
Fish	LOD ≤ 1,0 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3610
Molluscs*	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen	S3613
Celery	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3605
Lupin	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3611
Mustard	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen**	S3609
<b>SureFood® ALLERGEN – qualitative real-time PCR</b>			
4plex Peanut/Haselnut/Walnut + IAC	LOD ≤ 1 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen	S3402
4plex Soya/Celery/Mustard + IAC	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen	S3401
4plex Macadamia/Brazil nut/Pecan + IAC	LOD ≤ 0,4 mg/kg (ppm)	100 Reaktionen	S3403
Buckwheat	LOD ≤ 0,4 mg/kg	100 Reaktionen	S7005
Oat	LOD ≤ 1 mg/kg	100 Reaktionen	S7004
4plex Cereals (wheat/barley/rye)	LOD ≤ 1 mg/kg	100 Reaktionen	S7006
<b>Vergleichsmaterial für die Quantifizierung</b>			
SureFood® QUANTARD Allergen 40	Maismehl mit dem Zusatz von 12 kennzeichnungspflichtigen allergenen Lebensmittelbestandteilen mit einer Konzentration von je 40 mg/kg; speziell für die Quantifizierung von Allergenen in Lebensmitteln entwickelt	2 g	S3301
<b>SureFood® – qualitative real-time PCR</b>			
Apricot	LOD ≤ 5 DNA-Kopien	100 Reaktionen	S7007
Rice	LOD ≤ 5 DNA Kopien/0,01 %	100 Reaktionen	S6103



\* Nur qualitativ.

\*\* Zur Quantifizierung muss SureFood® QUANTARD Allergen 40 verwendet werden.