

# Product information

Information about other products is available at: [www.demeditec.com](http://www.demeditec.com)



## User's Manual

# Almond ELISA

Enzyme Immunoassay for the quantitative determination of Almond in food



DEALME01



96

Sensitivity (Almond)	0.2 ppm
Recovery	69 – 107 %
Incubation Time	60 min

## 1. GENERAL INFORMATION

Almond (*Prunus dulcis*) belongs to the rosaceae. With 25 % the fraction of proteins in almond is high. Some of these proteins are known for being allergenic. In addition to profilin which is known to be cross-reactive to grass pollen, the almond major protein AMP has the greatest relevancy. AMP is known to be heat resistant making it stable to different production processes. For this reason almond represents an important food allergen. For almond allergic persons hidden almond allergens in food are a critical problem. Already very low amounts of almond can cause allergic reactions, which may lead to anaphylactic shock in severe cases. Because of this, almond allergic persons must strictly avoid the consumption of almonds or almond containing food. Crosscontamination, mostly in consequence of the production process is often noticed. The chocolate production process is a representative example. This explains why in many cases the existence of almond residues in foods cannot be excluded. For this reason sensitive detection systems for almond residues in foodstuffs are required.

The **Almond ELISA** represents a highly sensitive detection system and is particularly cap-able of the quantification of almond residues in cookies, cereals, ice cream and chocolate.

## 2. PRINCIPLE OF THE TEST

The **Almond** quantitative test is based on the principle of the enzyme linked immunosorbent assay. An antibody directed against almond prote-ins is bound on the surface of a microtiter plate. Almond containing samples or standards are given into the wells of the microtiter plate. After 20 minutes incubation at room temperature, the wells are washed with diluted washing solution to remove unbound material. A peroxidase conjugated second antibody directed against almond proteins is given into the wells and after 20 minutes of incubation the plate is washed again. A substrate solution is added and incubated for 20 minutes, resulting in the devel-opment of a blue colour. The colour development is inhibited by the addition of a stop solution, and the colour turns yellow. The yellow colour is measured photometrically at 450 nm. The concentration of almond is directly proportional to the colour intensity of the test sample.

## 3. PRECAUTIONS

Full compliance of the following good laboratory practices (GLP) will determine the reliability of the results:

1. Prior to beginning the assay procedure, bring all reagents to room temperature (20-25°C).
2. All reagents should be mixed by gentle inversion or swirling prior to use. Do not induce foaming.
3. Once the assay has been started, all subsequent steps should be completed without interruption and within the recommended time limits.
4. Replace caps in all the reagents immediately after use. Do not interchange vial stoppers.
5. Use a separate disposable tip for each specimen to prevent cross-contamination.
6. All specimens and standards should be run at the same time, so that all conditions of testing are the same.
7. Do not mix components from different batches.
8. Do not use reagents after expiration date.
9. Check both precision and accuracy of the laboratory equipment used during the procedure (micro-pipets, ELISA reader etc.).

## 4. HEALTH AND SAFETY INSTRUCTIONS

1. Do not smoke or eat or drink or pipet by mouth in the laboratory.
2. Wear disposable gloves whenever handling patient specimens.
3. Avoid contact of substrate and stop solution with skin and mucosa (possible irritation, burn or toxicity hazard). In case of contact, rinse the affected zone with plenty of water.
4. Handling and disposal of chemical products must be done according to good laboratory practices (GLP).

## 5. REAGENTS

The kit contains reagents for 96 determinations. They have to be stored at 2-8°C. Expiry data are found on the labels of the bottles and the outer package.

1. Microtiter plate consisting of 12 strips with 8 breakable wells each, coated with anti-almond antibodies.
2. Almond Standards (0; 0.4; 1; 4; 10 ppm of almond): 5 vials with 1.0 mL each, dyed red, ready-to-use
3. Conjugate (anti-almond-peroxidase): 15 mL, dyed red, ready-to-use.
4. Substrate Solution (TMB): 15 mL, ready-to-use.
5. Stop Solution (1 N acidic solution): 15 mL, ready-to-use.
6. Extraction and sample dilution buffer (Tris): 2 x 120 mL as 10x concentrate, dyed red. Dilute 1+9 with distilled water. Stored at 4°C the diluted buffer is stable for at least one week. If during the cold storage crystals precipitate, the concentrate should be warmed up to 37°C for 15 minutes.
7. Washing Solution (PBS + Tween 20): 60 mL as 10x concentrate. Dilute 1+9 with distilled water. Stored at 4°C the diluted buffer is stable for at least 4 weeks. If during the cold storage crystals precipitate, the concentrate should be warmed up to 37°C for 15 minutes.
8. Plastic bag to store unused microtiter strips.
9. Instruction Manual.

## 6. ADDITIONAL INSTRUMENTATION AND REAGENTS (NOT PROVIDED)

### Instrumentation

- 100 - 1000 µL micropipets
- Volumetric flask
- Analytical balance
- Mortar, mixer
- Water bath
- Centrifuge
- ELISA reader (450 nm)

### Reagents

- double distilled water

## 7. SAMPLE PREPARATION

Due to high risk of cross-contamination all applied instruments like applicator, mortar, glass vials etc. have to be **cleaned thoroughly** before and after each sample. Almond proteins adhere very strongly to different surfaces. To identify possible cross-contamination caused by previous extractions it is strongly recommended to note the sequence of the extractions.

The following sample preparation should be applied for all kinds of samples:

1. To maximize homogeneity and representativeness of the sample drawing, a minimum of 5 g sample should be pulverized finely in a mortar, impact mill etc.
2. 1 g of the homogenized mixture is suspended in 20 mL of **pre-diluted** extraction buffer. Afterwards the suspension is incubated for 15 min in a preheated water bath at 60°C. To ensure good homogeneity, the samples should be shaken every two minutes.
3. The samples are centrifuged for 10 minutes at 2000 g. If it is not possible to separate the supernatant from the precipitate completely, the suspension should be filtrated if necessary.
4. 100 µL of particle-free solution are applied per well. If the results of a sample are out of the measuring range, further dilution with the **pre-diluted** extraction and sample dilution buffer is necessary. The additional dilution has to be considered when calculating the concentration.

## 8. PROCEDURE

The washing solution is supplied as 10x concentrate and has to be **diluted** 1+9 with double distilled water before use.

In any case the **ready-to-use** standards provided should be determined twofold. When samples in great quantities are determined, the standards should be pipetted once before the samples and once after the samples. For final interpretation the arithmetic mean is used for calculation.

In consideration of GLP and quality control requirements a duplicate measurement of samples is recommended.

The procedure is according to the following scheme:

1. Prepare samples as described above.
2. Pipet 100 µL **ready-to-use** standards or prepared samples in duplicate into the appropriate wells of the microtiter plate.
3. Incubate for 20 minutes at room temperature.
4. Wash the plate three times as follows: Discard the contents of the wells (dump or aspirate). Pipet 300 µL of diluted washing solution into each well. After the third repetition empty the wells again and remove residual liquid by striking the plate against a paper towel. The wash procedure is critical. Insufficient washing will result in poor precision and falsely elevated absorbencies.
5. Pipet 100 µL of conjugate (anti-almond-peroxidase) into each well.
6. Incubate for 20 minutes at room temperature.
7. Wash the plate as outlined in 4.
8. Pipet 100 µL of substrate solution into each well.
9. Allow the reaction to develop in the dark (e.g. cupboard or drawer; the chromogen is light-sensitive) for 20 minutes at room temperature.
10. Stop enzyme reaction by adding 100 µL of stop solution (1 N acidic solution) into each well. The blue colour will turn yellow upon addition.
11. After thorough mixing, measure absorbance at 450 nm (reference wavelength 620 nm), using an ELISA reader. The colour is stable for 30 minutes.

## 9. CALCULATION OF RESULTS

The ready-to-use standards are prepared for a direct determination of sample concentrations. The dilution of samples in the extraction process as described in the above stated sample preparation procedure is already considered. Additional dilution due to high sample concentration has to be accounted for.

1. Calculate the average optical density (OD 450 nm) for each set of reference standards or samples.
2. Construct a standard curve by plotting the mean optical density obtained for each reference standard against its concentration in ppm on semi-log graph paper with the optical density on the vertical (y) axis and the concentration on the horizontal (x) axis. Alternatively the evaluation can be carried out by software. In this case the 4-parameter method should be preferred.
3. Using the mean optical density value for each sample, determine the corresponding concentration of almond in ppm from the standard curve. Depending on experience and/or the availability of computer capability, other methods of data reduction may be employed.

## 10. TYPICAL STANDARD VALUES

The following table contains an example for a typical standard curve. The binding is calculated as percent of the absorption of the 10 ppm standard. These values are only an example and should not be used instead of the standard curve which has to be measured in every new test.

Almond (ppm)	% binding of 10 ppm
10	100
4	54
1	21
0.4	13
0	6

**11. PERFORMANCE****Sensitivity**

The limit of detection (LOD) of the **Almond test** is 0.2 ppm.

The limit of quantification (LOQ) of the **Almond test** is 0.4 ppm.

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

**Cross-reactivity**

For the following foods no cross-reactivity could be detected:

Milk	Sunflower seeds	Walnut
Egg	Poppy seed	Pistachio
Wheat	Sesame	Chestnut
Barley	Pine nuts	Lecithin
Rye	Cashew nut	Peach
Oats	Peanut	Plum
Rice	Hazelnut	Apricot
Corn	Pecan	Cherry
Buckwheat	Brazil nut	Cocoa
Soy	Coconut	

**Precision**

Intra-assay Precision	3 – 9 %
Inter-assay Precision	3 – 13 %
Inter-lot Precision	2 – 8 %

**Linearity**

The serial dilution of spiked samples (cookies, cereals, ice cream and chocolate) resulted in a dilution linearity of 85 - 98 %.

**Recovery**

Mean recovery was determined by spiking samples with different amounts of almond:

Cookies	91 %
Cereals	107 %
Ice cream	79 %
Dark chocolate	69 %

## 12. REFERENCES

1. Roux KH, et al. (2001) – Detection and stability of the major almond allergen in foods. *J Agric Food Chem*, 49(5):2131-6
2. Venkatachalam M, et al. (2002) – Effects of roasting, blanching, autoclaving and microwave heating on antigenicity of almond (*Prunus dulcis* L.) proteins. *J Agric Food Chem*, 50(12):3544-8
3. Ben Rejeb S, et al. (2005) – Multi-allergen screening immunoassay for the detection of protein markers of peanut and four tree nuts in chocolate. *Food Addit Contam*, 22(8):709-15
4. Acosta MR, et al. (1999) – Production and characterization of rabbit polyclonal antibodies to almond (*Prunus dulcis* L.) major storage protein. *J Agric Food Chem*, 47(10):4053-9
5. Tawde P, et al. (2006) – Cloning and characterization of profilin (Pru du 4), a cross-reactive almond (*Prunus dulcis*) allergen. *J Allergy Clin Immun*, 118(4):915-922
6. De Leon MP, et al. (2003) – Immunological analysis of allergenic cross-reactivity between peanut and tree nuts. *Clin Exp Allergy*, 33(9):1273-80
7. Shridar K, et al. (2001) – Electrophoretic and immunological analyses of almond (*Prunus dulcis* L.) genotypes and hybrids. *J Agric Food Chem*, 49(4):2043-52
8. Shridar K, et al. (2002) – Biochemical characterization of amandin, the major storage protein in almond (*Prunus dulcis* L.). *J Agric Food Chem*, 50(15):4333-41
9. Gaur V, et al. (2008) – Purification, identification and preliminary crystallographic studies of pru du amandin, an allergenic protein from *Prunus dulcis*. *Acta Cryst Sect Struct Biol Cryst Com*, 64(1):32-5
10. Lee SH, et al. (2005) – A 50 kDa maize gamma-zein has marked cross reactivity with the almond major protein. *J Agric Food Chem*, 53(20):7965-70

---

Empfindlichkeit	0,2 ppm
Wiederfindung	69 – 107 %
Inkubationszeit	60 min

## 1. ALLGEMEINES

Die Mandel (*Prunus dulcis*) gehört zu den Rosengewächsen und hat mit ca. 25% einen hohen Proteinanteil im Kern. Einige dieser Proteine sind als allergieauslösend bekannt. Neben dem mit Gräsern kreuzreagierenden Profilin hat dabei das Hauptspeicherprotein AMP große Bedeutung. Dieses verliert auch nach Hitzeeinwirkung nicht sein allergisches Potential und ist damit stabil gegenüber verschiedenen Produktionsprozessen. Aus diesem Grund stellt die Mandel ein bedeutsames Nahrungsmittelallergen dar. Für Allergiker sind versteckte Mandelallergene in Nahrungsmitteln ein kritisches Problem. Schon sehr geringe Mengen von Mandel lösen allergische Reaktionen bis hin zum anaphylaktischen Schock aus. Aus diesem Grund müssen Mandelallergiker auf den Konsum von Mandeln oder mandelhaltigen Nahrungsmitteln strikt verzichten. Aufgrund von Kreuzkontaminationen, meist bedingt durch den Produktionsprozess von Nahrungsmitteln wie z.B. bei Schokolade, kann bei einigen Lebensmitteln das Vorhandensein von Mandelrückständen nicht ausgeschlossen werden. Um diese detektieren zu können, bedarf es sensitiver Nachweissysteme.

Der **Mandel ELISA** stellt ein hochsensibles Nachweissystem dar und ist insbesondere zur Quantifizierung von Mandelrückständen in Keksen, Cerealien, Eiscreme und Schokolade geeignet.

## 2. TESTPRINZIP

Der **Mandel Test** basiert auf dem Prinzip des Enzymimmunoassay (EIA). Ein gegen Mandelprotein gerichteter Antikörper ist auf der Oberfläche der Mikrotiterplatte gebunden. Darauf wird die Mandel enthaltende Probe bzw. Standards in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte gegeben. Es findet eine Bindung zwischen Antikörper und Mandelprotein statt. Nach 20-minütiger Inkubation bei Raumtemperatur wird die Platte mit verdünntem Waschpuffer gewaschen, um nichtgebundenes Material zu entfernen. Ein Peroxidase-markierter, gegen Mandelprotein gerichteter zweiter Antikörper wird in die Vertiefungen pipettiert. Nach einer weiteren 20-minütigen Inkubation wird erneut gewaschen. Eine Substratlösung wird hinzupipettiert und 20 Minuten inkubiert, wodurch in den Vertiefungen ein blauer Farbstoff entwickelt wird. Die Farbentwicklung wird durch Zugabe einer Stopp-Lösung beendet, wobei ein Farbumschlag von blau nach gelb stattfindet. Die resultierende Farbe wird spektrophotometrisch bei 450 nm gemessen. Die Mandelkonzentration ist der Intensität der Färbung direkt proportional.

## 3. VORSICHTSMAßNAHMEN

Die volle Übereinstimmung mit den folgenden Regeln für eine gute Laborpraxis (GLP) wird zu vertrauenswürdigen Ergebnissen führen:

1. Vor der Testdurchführung müssen alle Reagenzien auf Raumtemperatur gebracht werden (20°C-25°C).
2. Alle Reagenzien sollten vor der Verwendung durch leichtes Kippen oder Schwenken gemischt werden. Die Erzeugung von Schaum sollte dabei vermieden werden.
3. Wenn mit der Testdurchführung einmal begonnen ist, sollten alle nachfolgenden Schritte ohne Unterbrechung und innerhalb der empfohlenen Zeitgrenzen vollzogen werden.
4. Unmittelbar nach Entnahme der Reagenzien sollten die Flaschen wieder mit ihren Stopfen verschlossen werden. Die Verschlüsse dürfen nicht verwechselt werden!
5. Für jede Probe muss eine separate Einmal-Pipettenspitze verwendet werden, um eine Verschleppung bzw. Kreuzkontamination zu vermeiden.
6. Alle Proben und Standards sollten gleichzeitig getestet werden, so dass die Bedingungen für alle identisch sind.
7. Komponenten von verschiedenen Chargen dürfen nicht verwendet oder gemischt werden.
8. Reagenzien dürfen nach der Verfallszeit nicht benutzt werden.
9. Es sollten ständig die Präzision und die Richtigkeit für die Laborgeräte kontrolliert werden, die man für das Testverfahren benutzt (Mikropipetten, Washer, ELISA-Reader, etc.).

#### 4. GESUNDHEITS- UND SICHERHEITSVORSCHRIFTEN

1. Im Laboratorium darf nicht geraucht, gegessen und getrunken werden. Das Pipettieren mit dem Mund ist nicht zulässig.
2. Beim Einsatz von Proben menschlichen Ursprungs müssen Einmalhandschuhe getragen werden.
3. Der Kontakt der Stopp-Lösung mit Haut und Schleimhäuten sollte vermieden werden, da mögliche Reizungen, Verbrennungen oder Vergiftungsgefahr auftreten können. Sollte ein Kontakt entstehen, muss der betroffene Bereich mit ausreichend Wasser abgespült werden.
4. Die Handhabung und die Beseitigung von chemischen Produkten muss nach den Richtlinien für eine gute Laborpraxis (GLP) erfolgen.

#### 5. REAGENZIEN

Der Kit enthält Reagenzien für 96 Bestimmungen. Sie müssen bei 2-8°C gelagert werden. Das Verfallsdatum ist auf jeder Komponente sowie auf der Verpackung angegeben.

1. Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten (12 Streifen mit je 8 Vertiefungen, einzeln abbrechbar), beschichtet mit mandelbindenden Antikörpern.
2. Mandel Standards: 5 Fläschchen mit je 1,0 mL (0, 0.4, 1, 4, 10 ppm Mandel), rot eingefärbt, gebrauchsfertig.
3. Konjugat (anti-Mandel-Peroxidase), 15 mL, rot eingefärbt, gebrauchsfertig.
4. Substratlösung (TMB), 15 mL, gebrauchsfertig.
5. Stopp-Lösung (1 N saure Lösung), 15 mL, gebrauchsfertig.
6. Extraktions- und Verdünnungspuffer (TRIS), 2 x 120 mL als 10x-Konzentrat, rot eingefärbt. Gebrauchslösung: 1+9 mit dest. Wasser verdünnen. Der verdünnte Puffer ist bei 4°C mindestens eine Woche haltbar. Falls bei der gekühlten Lagerung Kristalle ausfallen sollten, das Konzentrat 15 Minuten im Wasserbad (37°C) erwärmen.
7. Waschlösung (PBS + Tween 20), 60 mL als 10x-Konzentrat. Gebrauchslösung: 1+9 mit dest. Wasser verdünnen. Der verdünnte Puffer ist bei 4°C mindestens 4 Wochen haltbar. Falls bei der gekühlten Lagerung Kristalle ausfallen sollten, das Konzentrat 15 Minuten im Wasserbad (37°C) erwärmen.
8. Ein wiederverschließbarer Plastikbeutel für die Lagerung unbenutzter Streifen.
9. Arbeitsanleitung.

#### 6. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE GERÄTE UND REAGENZIEN

##### Geräte

- 100 - 1000 µL Mikropipetten
- Messkolben
- Analysenwaage
- Mörser, Mixer
- Wasserbad
- Zentrifuge
- Mikrotiterplatten-Photometer (450 nm)

##### Reagenzien

- bidestilliertes Wasser



## 7. PROBENVORBEREITUNG

Aufgrund der hohen Gefahr von Kreuzkontaminationen müssen alle verwendeten Arbeitsgeräte wie Spatel, Mörser, Glasgefäße etc. vor und nach jeder Probe **gründlich gereinigt** werden. Mandelproteine haften sehr stark an den Oberflächen. Es wird empfohlen, die Reihenfolge der Extraktionen festzuhalten, um eventuelle Kreuzkontaminationen durch Vorextrakte besser identifizieren zu können.

Folgende Probenvorbereitung sollte für alle Arten von Proben angewandt werden:

1. Um eine möglichst homogene und repräsentative Probennahme zu gewährleisten, sollten mindestens 5 g Probe in einem Mörser, Schlagmühle etc. fein zermahlen und gut durchgemischt werden.
2. Von dieser Mischung wird 1 g entnommen und in 20 mL **verdünntem** Extraktionspuffer suspendiert. Anschließend wird die Suspension für 15 min in einem vorgeheizten Wasserbad bei 60 °C inkubiert. Die Proben sollten währenddessen alle zwei Minuten geschüttelt werden, um eine gute Durchmischung zu gewährleisten.
3. Die Proben werden bei mindestens 2500 g für 10 min zentrifugiert. Sollte sich der Überstand anschließend nicht partikelfrei abtrennen lassen, kann gegebenenfalls noch einmal filtriert werden.
4. Für den Test werden pro Kavität 100 µL partikelfreie Lösung eingesetzt. Sollte das Ergebnis des Tests oberhalb des Messbereichs liegen, kann die Lösung gegebenenfalls mit **verdünntem** Extraktionspuffer weiter verdünnt und erneut bestimmt werden.

## 8. TESTDURCHFÜHRUNG

Der Waschpuffer liegt als 10faches Konzentrat vor und muss vor dem Gebrauch 1+9 mit bidestilliertem Wasser **verdünnt** werden.

Die **gebrauchsfertigen** Standards sollten in jedem Fall im Doppelansatz bestimmt werden. Bei größeren Mengen von Proben sollten die Standards einmal vor und einmal nach den Proben pipettiert und der Mittelwert zur Auswertung herangezogen werden.

Unter Berücksichtigung von GLP und Qualitätsmanagement ist eine Bestimmung der Proben im Doppelansatz zu empfehlen.

Die Testdurchführung verläuft nach dem folgenden Schema:

1. Proben nach Vorschrift vorbereiten.
2. 100 µL **gebrauchsfertige** Standards bzw. vorbehandelte Proben im Doppelansatz in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte geben.
3. Platte 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
4. Platte wie folgt dreimal waschen: Vertiefungen der Platte entleeren (auskippen oder absaugen) und 300 µL endverdünnte Waschlösung dazugeben. Nach der dritten Wiederholung Vertiefungen erneut leeren und Flüssigkeitsreste durch Ausschlagen der Mikrotiterplatte auf einem Papiertuch entfernen. Der Waschvorgang ist ein kritischer Schritt. Ungenügendes Waschen führt zu einer geringen Präzision und fälschlicherweise erhöhten Extinktionen.
5. 100 µL Konjugat (anti-Mandel-Peroxidase) in die Vertiefungen pipettieren.
6. Platte 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
7. Vertiefungen wie in Punkt 4 beschrieben waschen.
8. 100 µL Substratlösung zugeben.
9. Platte abdecken und 20 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren.
10. Substratreaktion durch Zugabe von 100 µL Stopp-Lösung (1 N saure Lösung) beenden.
11. Nach sorgfältigem Mischen erfolgt die Messung der Extinktion bei 450 nm (eventuell Referenzwellenlänge 620 nm). Die Farbe ist maximal 30 Minuten stabil.

## 9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

1. Für jede Probe bzw. jeden Standard wird die gemittelte Extinktion berechnet.
2. Aus den gemittelten Werten der Standardreihe wird graphisch auf halblogarithmischem Millimeterpapier oder über ein EDV-Programm (4-Parameter-Auswertung) eine Eichkurve erstellt. Die Extinktion jedes Standards (y-Achse) wird gegen die Konzentration in ppm (x-Achse) aufgetragen.
3. Mit Hilfe dieser Kurve wird für die gemittelten Extinktionen der Proben der Wert in ppm für Mandel abgelesen. Die ermittelten Konzentrationen beziehen sich direkt auf den Mandelgehalt der eingewogenen Probe. Sollte der Extrakt aufgrund eines zu hohen Mandelgehalts zusätzlich verdünnt worden sein, muss dies bei der Auswertung berücksichtigt werden.

## 10. TYPISCHE STANDARDKURVE

Die folgende Tabelle enthält ein Beispiel für eine Standardreihe. Die Werte dieser Standardkurve sind nur als Beispiel bestimmt und dürfen nicht an Stelle der in jedem Test neu zu erstellenden Kurve verwendet werden.

Mandel (ppm)	OD-% von 10 ppm
10	100
4	54
1	21
0,4	13
0	6

## 11. TECHNISCHE DATEN

### Empfindlichkeit

Die mittlere untere Nachweisgrenze des **Mandel Tests** beträgt 0,2 ppm.

Die untere Bestimmungsgrenze des **Mandel Tests** beträgt 0,4 ppm.

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

### Spezifität

Für die folgenden Nahrungsmittel wurde ein negatives Ergebnis und damit keine Kreuzreaktivität festgestellt:

Milch	Sonnenblumenkern	Walnuss
Ei	Mohn	Pistazie
Weizen	Sesam	Marone
Roggen	Pinienkern	Lecithin
Hafer	Cashew	Pfirsich
Gerste	Erdnuss	Pflaume
Reis	Haselnuss	Aprikose
Mais	Pecannuss	Kirsche
Buchweizen	Paranuss	Kakao
Soja	Kokosnuss	

### Präzision

Intra-Assay Präzision	3 – 9 %
Inter-Assay Präzision	3 – 13 %
Inter-Chargen Präzision	2 – 8 %

### Linearität

Die schrittweise Verdünnung dotierter Proben über fünf Stufen (Kekse, Cerealien, Eiscreme, Schokolade) ergab Verdünnungslinearitäten von 85 – 98%.

### Wiederfindung

Die folgenden mittleren Wiederfindungsraten wurden anhand aufgestockter Proben bestimmt:

Kekse	91 %
Cerealien	107 %
Eiscreme	79 %
Zartbitterschokolade	69 %

## 12. LITERATUR

1. Roux KH, et al. (2001) – Detection and stability of the major almond allergen in foods. *J Agric Food Chem*, 49(5):2131-6
2. Venkatachalam M, et al. (2002) – Effects of roasting, blanching, autoclaving and microwave heating on antigenicity of almond (*Prunus dulcis* L.) proteins. *J Agric Food Chem*, 50(12):3544-8
3. Ben Rejeb S, et al. (2005) – Multi-allergen screening immunoassay for the detection of protein markers of peanut and four tree nuts in chocolate. *Food Addit Contam*, 22(8):709-15
4. Acosta MR, et al. (1999) – Production and characterization of rabbit polyclonal antibodies to almond (*Prunus dulcis* L.) major storage protein. *J Agric Food Chem*, 47(10):4053-9
5. Tawde P, et al. (2006) – Cloning and characterization of profilin (Pru du 4), a cross-reactive almond (*Prunus dulcis*) allergen. *J Allergy Clin Immun*, 118(4):915-922
6. De Leon MP, et al. (2003) – Immunological analysis of allergenic cross-reactivity between peanut and tree nuts. *Clin Exp Allergy*, 33(9):1273-80
7. Shridar K, et al. (2001) – Electrophoretic and immunological analyses of almond (*Prunus dulcis* L.) genotypes and hybrids. *J Agric Food Chem*, 49(4):2043-52
8. Shridar K, et al. (2002) – Biochemical characterization of amandin, the major storage protein in almond (*Prunus dulcis* L.). *J Agric Food Chem*, 50(15):4333-41
9. Gaur V, et al. (2008) – Purification, identification and preliminary crystallographic studies of pru du amandin, an allergenic protein from *Prunus dulcis*. *Acta Cryst Sect Struct Biol Cryst Com*, 64(1):32-5
10. Lee SH, et al. (2005) – A 50 kDa maize gamma-zein has marked cross reactivity with the almond major protein. *J Agric Food Chem*, 53(20):7965-70

## SYMBOLS USED WITH DEMEDITEC ASSAYS

Symbol	English	Deutsch	Français	Español	Italiano
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conformité aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	Usage Diagnostic in vitro	Para uso Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Numéro de catalogue	Número de catálogo	Numero di Catalogo
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	Numéro de lot	Número de lote	Numero di lotto
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Température de conservation	Temperatura de conservación	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
Distributed by	Distributor	Vertreiber	Distributeur	Distribuidor	Distributore
Content	Content	Inhalt	Conditionnement	Contenido	Contenuto
Volume/No.	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Quantité	Volumen/Número	Volume/Quantità