Disp&FLOW®–Gluten

Test rapide de détection de gliadine et de prolamines connexes

N° cat. : BIO.040.1

Nombre de test : 1



Test immuno-chromatographique rapide pour la détermination qualitative ou semi-quantitative de la présence degliadine et de prolamines connexes (hordénine et sécaline) dans les aliments.
Le test Disp&FLOW – Gluten a été conçu pour la détection des antigènes cibles dans deux grands types de spécimens :

1. **Les échantillons solides** à base de nourriture / produits alimentaires solides / ustensiles de cuisine / surface techniques dédiées à la découpe, au traitement et au stockage des produits alimentaires.
2. **Les échantillons plus ou moins liquides** tels que : crèmes dessert ; pâtes à tartiner ; eaux de rinçage des outils de préparation des aliments, eaux de rinçage des ustensiles de cuisine.

Principe de fonctionnement

Le gluten est un mélange de protéines combiné avec de l'amidon présent dans l'endosperme de la plupart des céréales. Le gluten se divise en deux groupes : les prolamines et les gluténines.

Les protéines de la famille des prolamines sont à la source d'allergies, de la maladie cœliaque, de maladies de la peau ou du système nerveux central. Les prolamines présentes dans le blé (alpha gliadine), le seigle (sécaline) et l'orge (hordénine) sont les plus nocives.

La maladie cœliaque touche de 0,2 % à 1,2% de la population mondiale avec une certaine proportion de cas bénins qui restent non diagnostiqués. L'allergie au gluten se caractérise par une variété de symptômes qui vont de l'allergie orale bénigne de type urticaire jusqu'aux réactions systémiques sévères et potentiellement mortelles, telles que l'asthme bronchique ou le choc anaphylactique. Les allergies au gluten sont communes parmi les allergies alimentaires et affectent quelques 0,1 % à 0,2 % de la population mondiale et plus spécifiquement les enfants. L'élimination stricte du gluten dans l'alimentation est la prophylaxie la plus efficace.

Aux Etats-Unis, la loi sur la protection des consommateurs (FALCPA) exige un étiquetage particulier lorsque la teneur en gluten est supérieure à 20 ppm.

Dans l'Union Européenne, les céréales contenant du gluten sont incluses dans la liste des allergènes alimentaires établie par l'Autorité européenne de sécurité des aliments. Les produits alimentaires susceptibles de contenir du gluten ne peuvent porter la mention « sans gluten » que lorsque sa teneur est inférieure à 20 ppm et la mention « faible teneur en gluten » que lorsque la teneur en gluten est inférieure à 100 ppm.

Dans d'autres pays, par exemple l'Australie, la législation exige des teneurs en gluten beaucoup plus faibles (2ppm) pour les aliments étiquetés « sans gluten ».

Le test Disp&FLOW – Gluten est basé sur le principe de l'immuno-chromatographie rapide sur bandelette (migration à flux latéral ou *lateral flow*). L'antigène cible présent dans l'échantillon est absorbé par la bandelette puis est reconnu par des anticorps spécifiques libres de se déplacer et conjugués à des microparticules colorées ; une fois formé, ce complexe migre le long de la bandelette jusqu'à une zone très focalisée où il va rencontrer un autre anticorps spécifique fixé au support. L'accumulation des microparticules forme une ligne colorée qui indique un résultat positif. La présence d'une seconde ligne contrôle garantit le bon fonctionnement du test.

Le test Disp&FLOW– Gluten détecte la gliadine et les prolamines apparentées (hordénine et sécaline) repré-sentant environ 50% de la teneur totale en gluten.

Spécificité et sensibilité du test

Le test Disp&FLOW – Gluten met en œuvre une paire d'anticorps monoclonaux dirigés contre diverses formes de gliadine et de prolamines connexes (hordénine, sécaline).
Le test Disp&FLOW – Gluten **NE détecte PAS** les antigènes apparentés des légumineuses (y compris en ce qui concerne le lupin), du riz (orzénine), du maïs (zénine), du millet (panicine), du sarrasin, de l'amarante, du quinoa et il est faiblement réactif à l'avoine (avénine).
Les caractéristiques du test, évaluées par la limite de détection (LOD) et la plage dynamique de lecture (ROD) pour différentes prolamines sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

Céréale	Prolamine	LOD (ppm)	ROD (ppm)
Blé	Gliadine	**2**	**2 – 2 000**
Orge	Hordénine	**2**	**2 – 40 000**
Seigle	Sécaline	**3**	**3 – 40 000**
Avoine	Avénine	**200**	**200 – 400 000**

NOTES IMPORTANTES : Le test Disp&FLOW – Gluten n'est adapté ni aux boissons ni aux sauces préparées du fait de l'absence de composants de hauts poids moléculaires (soit à cause d'un traitement chimique spécifique [hydrolyse acide], soit suite à une dégradation enzymatique au cours de l'élaboration).
La sensibilité du test Disp&FLOW – Gluten est calculée en prenant en compte l'antigène cible contenu dans la matière solide à tester et après préparation, avec un ratio final solide / liquide (poids / volume) de 1/10.

La sensibilité du test décroit en cas de mélange de l'antigène cible à des ingrédients riches en matière grasse (crème, beurre, huiles végétales) ou avec le chauffage des aliments (cuisson).

D'autres données sur les performances (sensibilité et spécificité) et le traitement de la matrice peuvent être demandés sur la messagerie info@biotem.fr.

Si le résultat du test est une ligne faiblement colorée ou difficilement interprétable, BIOTEM recommande de tester de nouveau l'échantillon avec un autre kit ou de réaliser une méthode différente, de type ELISA quantitatif ou PCR.

Contenu du kit

Le test Disp&FLOW – Gluten contient les éléments suivants :

- Une bandelette-test emballée dans un sachet aluminium contenant un dessiccant et hermétiquement scellé
- Un tube contenant 10mL de tampon d'extraction (bouchon blanc)
- Un tube contenant ***4mL*** de tampon de dilution (bouchon bleu)
- Un écouvillon de prélèvement d'échantillon
- Une pipette de transfert de 250 µL **à tige longue** (uniquement pour échantillons liquides)
- ***Une pipette de transfert 100 µL à tige moyenne***
- ***Une pipette de transfert 20 µL à tige courte***
- Une notice d'utilisation
- Une cuillère doseuse digitale (optionnel)

Conservation et stabilité

- Le kit doit être conservé entre ***+2 et +30°C*** en atmosphère sèche et à l'abri du soleil.
- **La bandelette ne doit pas être congelée et se conserve dans son sachet hermétiquement fermé.**
- Le kit doit être utilisé avant la date de péremption indiquée sur l'emballage.

Matériel nécessaire mais non fourni

- Spatule de prélèvement, de préférence à usage unique
- Mortier ou mélangeur
- Micropipettes (optionnel)
- Centrifugeuse (optionnel)
- Balance de précision

Précautions

- Les composants du kit sont à usage *in vitro* uniquement.
- Le kit peut être utilisé jusqu'à sa date de péremption s'il a été conservé dans les conditions indiquées.

COMMERCIALISATION BIOTEM SAS

- Ne pas utiliser le test au-delà de sa date de péremption.
- Le sachet thermoscellé contenant la bandelette doit être conservé à température ambiante ***(+2 et +30°C).***
- Toutes les manipulations liées à l'utilisation de ce test doivent être effectuées dans le strict respect des conditions de non-contamination des échantillons ; en particulier, il convient de porter des gants pendant la manipulation.
- Ne pas utiliser le test si le sachet aluminium a été retrouvé déchiré ou découpé dans la boîte.
- La bandelette doit être conservée dans son sachet hermétiquement fermé (les bandelettes sont très sensibles à une hygrométrie élevée) – ne pas utiliser une bandelette plus de 10 minutes après l'ouverture du sachet.
- Procéder avec précaution lors de l'ouverture de ce sachet (voir le point 1 du paragraphe 'Procédure d'essai'), afin de ne pas couper ou endommager la bandelette.
- Une fois le sachet ouvert, la bandelette doit être manipulée par sa partie supérieure de couleur. Ne pas toucher directement la partie centrale de la bandelette composée de nitrocellulose, ni son extrémité absorbante.
- Utiliser uniquement le tube contenant le tampon d'extraction fourni dans le kit. Ne jamais utiliser de constituants provenant de kits différents.
- Veiller à ne pas immerger la bandelette plus profondément que la ligne placée sous les flèches.
- Le test Disp&FLOW – Gluten ne contient que des éléments à usage unique ; ne pas réutiliser.

Elimination des déchets

- Eliminer tous les consommables utilisés conformément à la réglementation des déchets biomédicaux.
- Chaque utilisateur est responsable de la gestion des déchets qu'il produit et doit s'assurer de l'élimination de ces derniers en fonction de la réglementation applicable.

Procédure de préparation des échantillons

Les échantillons doivent être amenés à une température comprise entre +18 °C et +35°C ; l'analyse d'échantillons plus froids diminue la sensibilité du test ; l'analyse d'échantillons plus chauds n'est pas possible du fait du risque de dégradation des anticorps présents dans la bandelette.
S'assurer que le matériel à tester soit un mélange de tous les ingrédients qui composent le produit alimentaire solide final.

Pour les matériaux solides, ustensiles ou autres tests de surfaces, nous recommandons la procédure suivante :

1. A l'aide d'outils propres (de préférence jetables), couper un petit morceau (5 à 10 g) de la matière à tester avec l'aide de la cuillère doseuse (optionnelle) ou d'une balance de précision.
2. Ecraser l'échantillon alimentaire à l'aide d'un mélangeur ou d'un mortier jusqu'à la formation d'une pate homogène. Attention : Bien rincer l'appareil de broyage avant chaque nouvel échantillon pour éviter les contaminations croisées.
3. Insérer précisément 1 g dans le tube à bouchon blanc contenant les 10mL de tampon d'extraction avec l'aide de la cuillère doseuse (optionnelle) ou d'une balance de précision.
4. Pour les ustensiles ou les autres tests de surfaces, se munir de l'écouvillon fourni et le passer sur la surface de l'objet à analyser en effectuant un mouvement croisé, dans un sens puis dans l'autre, puis en diagonale. Insérer ensuite l'écouvillon dans le tube-test et l'agiter pendant 10 à 15 secondes dans le tampon d'extraction.
5. Sceller hermétiquement le tube avec le bouchon blanc.
6. Agiter vigoureusement le tube manuellement ou à l'aide de vortex à vitesse maximale pendant 30 secondes.
7. Incuber 30min à 20–25°C en agitant périodiquement le tube manuellement ou à l'aide de vortex.
8. Si nécessaire, centrifuger l'extrait 5 minutes à 200 x *g* ou laisser décanter l'échantillon afin d'éliminer le maximum de particules en suspension.
9. NE JAMAIS utiliser l'extrait non dilué dans le tampon de dilution : Diluer l'extrait comme suit, avec le tampon de dilution contenu dans le tube test à bouchon blanc :

Pour une détermination sensible ($LOD_{gliadine}$**=2 ppm**), prélever précisément **200 µL** (à l'aide d'une pipette de laboratoire ou ***en aspirant 2 fois le volume total de la pipette de transfert à tige moyenne fournie***) de l'extrait contenu dans le tube de 10mL (bouchon blanc).

Pour un dépistage de routine ($LOD_{gliadine}$**=20 ppm),** prélever précisément ***20 µL*** (à l'aide d'une pipette de laboratoire ou en aspirant 1 fois le volume total de la pipette de transfert à **tige *courte*** fournie) de l'extrait contenu dans le tube de 10mL (bouchon blanc).
Transférer ensuite le volume choisi dans les ***4 mL*** de tampon de dilution fourni (tube avec bouchon bleu). Vortexer ou agiter manuellement.

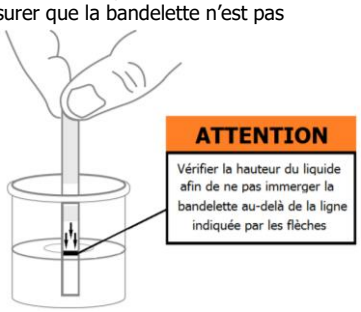
Pour les échantillons liquides

La limite de détection du test pour les échantillons liquides est fonction de leur viscosité et de leur turbidité.
Si l'échantillon est visqueux et ne peut pas atteindre la zone de test par migration sur la bandelette, il doit être dilué dans le tampon de dilution. Dans ce cas, le niveau de sensibilité du test doit être ajusté par le facteur de dilution.
Les spécimens troubles doivent être filtrés à travers un filtre textile ou un filtre de papier.

1. Agiter vigoureusement la matière liquide à tester, manuellement ou à l'aide de vortex à vitesse maximale, pendant 20 – 30 secondes
2. À l'aide de la pipette de transfert à tige longue fournie, insérer précisément 1mL ou 4 fois le volume total de la pipette de l'échantillon liquide à tester dans le tube à bouchon blanc contenant 10mL de tampon d'extraction
3. Sceller hermétiquement le tube avec le bouchon blanc.
4. Agiter vigoureusement le tube manuellement ou à l'aide de vortex à vitesse maximale pendant 20–30 secondes.
5. Continuer comme au point 7 de la 'Procédure de préparation des échantillons / Pour les matériaux solides'.

Procédure d'essai

1. Amener les échantillons à une température comprise entre +18 et +35°C.
2. Sortir le sachet aluminium (sans l'ouvrir) et laissez-le à température ambiante pendant 5 à 10 minutes.
3. Ouvrir le sachet contenant la bandelette-test en prenant garde de ne pas couper cette dernière.
4. Saisir la bandelette par la partie supérieure de couleur et tremper l'autre extrémité verticalement dans le surnageant du tube-test à bouchon bleu. **Attention :** s'assurer que la bandelette n'est pas immergée trop profondément – voir le schéma ci-contre ➔



5. Laisser tremper la bandelette pendant 20 - 30 secondes puis la placer sur une surface PROPRE et horizontale ; ne pas toucher ou déplacer la bandelette pendant 10 minutes, le temps de la migration de l'échantillon.
6. Lire le résultat et l'interpréter conformément aux schémas et instructions ci-dessous.

Interprétation des résultats

Le test est positif si 2 lignes rouges apparaissent clairement dans la zone centrale de la bandelette (ligne 'Test' et ligne 'Contrôle', voir ci-dessous). Ne pas tenir compte de l'ordre d'apparition des 2 lignes ni des nuances éventuelles d'intensité de couleur.



Le test est négatif si une seule ligne rouge apparaît (voir ci-dessous) : il s'agit de la ligne 'Contrôle' qui garantit le bon fonctionnement du test.



Si la ligne 'Test'– et uniquement elle – apparaît (voir ci-dessous), le test ne peut être interprété et aucun résultat n'est validé.



Si aucune ligne n'apparaît (voir ci-dessous), le test ne peut être interprété et aucun résultat n'est validé.



Dans ces deux derniers cas, avant de recommencer avec un autre test Disp&FLOW – Gluten, il convient de s'assurer que l'ensemble des instructions de préparation, de conservation et de mise en œuvre du test ont bien été respectées, ainsi que la date de péremption.

COPYRIGHT BIOTEM SAS

BIOTEM
Parc d'activités Bièvre Dauphine
885, rue Alphonse Gourju
38140 Apprieu
France

tél +33 (0)4 76 65 10 91
fax +33 (0)4 76 67 48 86
info@biotem.fr
www.biotem.fr

BIOTEM
Custom antibodies & services