Disp&FLOW® – Noisette

Test rapide de détection de protéine spécifique

N° cat. : BIO.033.1

Nombre de test : 1

Test immuno-chromatographique rapide pour la détermination qualitative de la présence de noisette dans les aliments, sur les ustensiles de cuisine et les surfaces préparatoires des installations de production ou de transformation de denrées alimentaires.

Le test Disp&FLOW – Noisette a été conçu pour la détection de l'antigène cible dans deux grands types de spécimens :

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

Principe de fonctionnement

La noisette est un fruit à coque issu du noisetier ou coudrier, un arbrisseau de 3 à 8 mètres de hauteur appartenant à la famille des Bétulacées. Cette désignation recouvre les fruits de toutes les variétés de *Corylus* mais plus particulièrement de la variété *Corylus avellana*.

L'allergie aux noisettes 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, tels que asthme bronchique ou le choc anaphylactique. L'allergie aux noisettes est commune parmi les allergies aux noix et affecte quelques 0,2 % à 0,5 % de la population mondiale, et plus spécifiquement les enfants.

La noisette et ses produits dérivés figurent dans la Directive européenne 2007/68/CE concernant l'étiquetage des aliments allergisants, sur la liste des ingrédients à prendre en compte (Annexe III bis).

Le test Disp&FLOW – Noisette 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 conjugués à des microparticules colorées et libres de se déplacer ; 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 rapidement une ligne colorée qui indique un résultat positif. La présence d'une seconde ligne témoin garantit le bon fonctionnement du test.

Spécificité et sensibilité du test

Le test Disp&FLOW – Noisette met en œuvre une paire d'anticorps monoclonaux dirigés contre l'une des protéines de la noisette qui est considérée comme l'un des allergènes majeurs, le *corylin* (Globuline 11S, protéine de stockage chez les graines du genre légumineuse, allergène Cor a 9). Cette protéine très abondante dans la noisette est résistante à la chaleur et à la digestion. Elle est associée à des réactions systémiques. La protéine *corylin* montre des similarités structurelles avec l'un des allergènes de l'arachide (Ara h 3) ainsi que de la noix du Brésil (Ber e 2). D'autres homologies potentielles ont été décrites avec des allergènes similaires présents chez d'autres plantes telles que le soja, les amandes ou les noix de cajou).

Le test Disp&FLOW – Noisette NE détecte PAS les antigènes de céréales, de légumineuses et d'autres fruits à coques, y compris les noix communes, les noix de pécan, les cacahuètes, les amandes, les noix de cajou, de macadamia, du Brésil et les noix de coco.

La sensibilité du test Disp&FLOW – Noisette, évaluée par la limite de détection de l'antigène cible dans les extractions réalisées en suivant les instructions de cette notice, est d'approximativement 5 ppm en poids sec (5 milligrammes par kilogramme de préparations alimentaires solides testées) ; La gamme d'utilisation est de 5 – 50 000 ppm.

La sensibilité du test Disp&FLOW – Noisette est calculée en prenant en compte l'antigène cible contenu dans la matière solide à tester et après préparation conformément à la procédure décrite dans la notice, c'est-à-dire avec un ratio final solide / liquide de 1:10 (poids / vol). La sensibilité du test peut être améliorée en réduisant le ratio final solide / liquide, cependant, cette modification peut se traduire en l'épaississement de la solution qui pourrait l'empêcher de pénétrer dans la bandelette.

La limite de détection pour les échantillons liquides est réduite d'un facteur 5 par rapport aux échantillons solides, ce qui revient dans ce cas à une sensibilité de l'ordre de 1 ppm.

En revanche, la sensibilité du test décroit en cas de mélange de l'antigène cible à des ingrédients riches en matière grasse (e.g. crème, beurre, huiles végétales) dans les matières à tester.

La sensibilité du test Disp&FLOW – Noisette peut aussi être mise en parallèle avec les niveaux de dilution des préparations proposées par différents laboratoires et utilisées pour les tests cutanés dans le cadre d'allergies primaires à la noisette ou liées au pollen – elle est équivalente à des dilutions allant du 100 000ème au 500 000ème.

NOTE IMPORTANTE : Le test Disp&FLOW – Noisette ne détecte pas les fragments hydrolysés, de petits poids moléculaires de la protéine cible ; de ce fait, il ne pourra être que négatif dans le cas de tests sur des boissons à la noisette contenant des constituants modifiés ou de très petites tailles.

Des données détaillées et actualisées sur la spécificité du test Disp&FLOW – Noisette peuvent être demandées sur notre 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 une méthode différente, de type ELISA quantitatif ou PCR.

Contenu du kit

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

- Une bandelette-test emballée dans un sachet aluminium contenant un dessicant et hermétiquement scellé.
- Un écouvillon de prélèvement d'échantillon.
- Un tube-test en polypropylène contenant 3 mL de tampon d'extraction permettant la préparation de l'échantillon et l'étape de migration du test.
- Une pipette de transfert.
- Une notice d'utilisation.

Conservation et stabilité

- Le kit doit être conservé entre +18 et +25°C en atmosphère sèche et à l'abri de l'exposition du soleil.
- **Les bandelettes ne doivent pas être congelées et se conservent dans leur 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.
- Paire de gants.

ISO 9001 BUREAU VERITAS Certification

NON-CONTRACTUAL DOCUMENT

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 dans cette notice.
- Ne pas utiliser le test au-delà de sa date de péremption.
- Les sachets thermo-scellés contenant les bandelettes doivent être conservés à température ambiante (entre +18 et +25°C).
- Toutes les manipulations liées à l'utilisation de ce test doivent être effectuées dans le respect strict des conditions de non-contamination des échantillons ; en particulier, porter des gants pendant la manipulation.
- Les bandelettes doivent être manipulées par leur partie supérieure de couleur. Ne pas toucher directement la partie centrale de la bandelette composée de nitrocellulose ni son extrémité absorbante.
- Les bandelettes doivent être conservées dans leur sachet hermétiquement fermé (les bandelettes sont très sensibles à l'humidité) – ne pas utiliser une bandelette plus de 10 minutes après l'ouverture du sachet.
- Ne pas utiliser le test si le sachet aluminium a été déchiré.
- Procéder avec précaution lors de l'ouverture de ce sachet (voir procédure d'essai), afin de ne pas couper ou endommager la bandelette.
- 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 – Noisette 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.

Préparation des échantillons

Préalablement au test, 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.

Les échantillons liquides peuvent être testés directement.
La limitation de la détection du test pour les échantillons liquides est fonction de leur viscosité et de leur turbidité (présence de particules).
Si l'échantillon est visqueux et ne peut pas atteindre la zone de test, il doit être dilué dans le tampon de dilution / extraction. 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. A l'aide de la pipette de transfert fournie, insérer l'échantillon liquide (1 – 2 mL) dans le tube-test contenant le tampon de dilution / extraction
2. Sceller hermétiquement le tube avec le bouchon.
3. Agiter vigoureusement le tube manuellement ou à l'aide de vortex à vitesse maximale pendant 20 – 30 secondes.
4. Poser le tube à la verticale sur un support et laisser sédimenter le contenu du tube ou centrifuger à faible vitesse dans une centrifugeuse, le surnageant est alors prêt pour les essais.

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

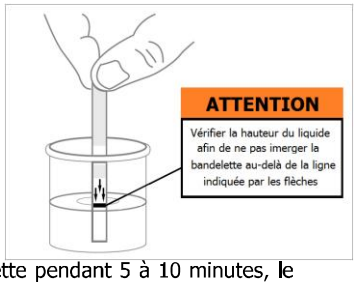
1. A l'aide d'outils propres bien aiguisés (de préférence jetables), couper un petit morceau (0.1 à 0.5 g) de la matière à tester et l'introduire dans le tube contenant le tampon de dilution / extraction.
2. Pour les ustensiles ou les autres tests de surfaces, se munir de l'écouvillon fourni et le passer 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.
3. Sceller hermétiquement le tube avec le bouchon.
4. Agiter vigoureusement le tube manuellement ou à l'aide de vortex à vitesse maximale pendant 25 – 30 secondes.
5. Poser le tube à la verticale sur un support et laisser sédimenter le contenu du tube ou centrifuger à faible vitesse dans une centrifugeuse, le surnageant est alors prêt pour les essais.

Les différents échantillons peuvent être conservés entre +2 °C et +8 °C pour une période de 24 heures. Pour une conservation prolongée, nous recommandons de congeler le spécimen

Procédure d'essai

Amener le tampon d'extraction à température ambiante (entre +18 et +25°C) et les échantillons à une température comprise entre +18 et +35°C.

1. Ouvrir le sachet contenant la bandelette-test en prenant garde de ne pas couper la bandelette.
2. Saisir la bandelette par la partie supérieure de couleur et tremper l'autre extrémité verticalement dans le surnageant du tube-test. **Attention** : s'assurer que la bandelette n'est pas immergée trop profon-dément – voir le schéma ci-contre ➔



3. Laisser tremper la bande-lette pendant 10 à 15 se-condes puis la placer sur une surface PROPRE et horizontale ; ne pas tou-cher ou déplacer la ban-delette pendant 5 à 10 minutes, le temps de la migration de l'échantillon.
4. 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 témoin, voir ci-dessous). Ne pas tenir compte de l'ordre d'apparition des 2 lignes ainsi que des nuances éventuelles d'intensité de la couleur.



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



Si uniquement la ligne test 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 – Noisette, 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.

DO NOT DUPLICATE

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