Disp&FLOW® – Moutarde

Test rapide de détection de protéine spécifique

N° cat. : BIO.038.1

Nombre de test : 1



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

Le test Disp&FLOW – Moutarde 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.
2. Les échantillons liquides de types : boissons ; eaux de rinçage des outils de préparation des aliments, des ustensiles de cuisine ; eaux de lavage des surfaces dédiées à la découpe, au traitement et au stockage des produits alimentaires.

Principe de fonctionnement

La moutarde est un condiment fabriqué à partir de graines de la plante du même nom (moutarde blanche ou jaune, *Sinapis alba* ; moutarde brune ou indienne, *Brassica juncea* ; ou moutarde noire, *Brassica nigra*), les deux plus importantes étant la blanche et la noire. La moutarde orientale (moutarde chinoise ou *Sisymbrium orientale*) est un autre membre de la famille des moutardes, de même que le Wasabi (*Eutrema japonicum*).

Les allergies à la moutarde se manifestent par une variété de symptômes, de l'allergie limitée, de type eczéma ou urticaire, jusqu'aux réactions systémiques plus ou moins graves telles que la rhinite et l'asthme bronchique, ou potentiellement mortelles tel que le choc anaphylactique. L'allergie à la moutarde est fréquente (classée dans le *top 10*) parmi les allergies alimentaires dans certaines zones géographiques mais il n'existe pas d'estimation fiable de la prévalence globale de cette allergie et de son évolution. La présence potentielle des allergènes alimentaires doit obligatoirement être indiquée sur l'emballage.

Le test Disp&FLOW – Moutarde détecte l'un des allergènes majeurs des graines de moutarde : la cruciférine CRU4 (*11S-globulin, allergen Sin a 2* – protéine de stockage). Cette protéine résistante à la cuisson est un membre de la famille des légumines et présente une certaine homologie avec des allergènes similaires présents dans d'autres plantes (soja, arachide, noix du Brésil et noix de cajou).

Ce test 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 – Moutarde met en œuvre une paire d'anticorps monoclonaux soigneusement sélectionnée et très performants pour la détection de l'antigène cible de la moutarde par la technique immuno-chromatographique rapide. Ce test détecte les antigènes de toutes les variétés de moutarde, ***mais il ne permet pas de détecter la présence de Wasabi***. Ce test est non-réactif avec les autres végétaux testés : les légumes, les noix, les épices et les céréales. De même, on n'observe pas de réaction croisée avec les parties comestibles (feuilles et racines) d'autres espèces de la famille des Brassicacées (*Brassicaceae*) – chou, brocoli, chou de Bruxelles, chou-fleur, raifort, radis, rutabaga, navet – ni avec l'huile de colza (ou huile de canola).
IMPORTANT À NOTER : le test Disp&FLOW – Moutarde est en revanche hautement réactif (réaction croisée) avec les **graines** des végétaux mentionnés ci-dessus, graines qui ne sont en général pas utilisées dans l'industrie alimentaire.
La sensibilité du test Disp&FLOW – Moutarde est d'approximativement ***5 ppm***, valeur mesurée au cours d'une extraction-type, en poids sec de graines de moutarde broyées et non transformées. ***La zone de détection du test est comprise entre 5 et 100 000 ppm***. La sensibilité du test Disp&FLOW – Moutarde décroit avec la modification de l'aliment par chauffage (cuisson) à des températures excédant les ***120°C.***
Si le résultat du test est une ligne faiblement colorée ou peu claire, BIOTEM recommande de tester de nouveau l'échantillon avec une méthode différente, de type ELISA quantitatif.

Contenu du kit

Le test Disp&FLOW – Moutarde 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 ***+2 et +30°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.

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.
- Le sachet thermoscellé contenant la bandelette doit être conservé à température ambiante (entre ***+2 et +30°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.

DOCUMENT OUT OF DATE

- 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 – Moutarde 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.

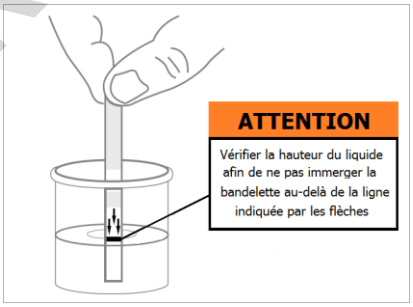
1. A l'aide de la pipette de transfert fournie, insérer l'échantillon liquide (1-2mL) dans le tube-test contenant le tampon de dilution/extraction.
2. Sceller hermétiquement le tube avec le bouchon.
3. Agiter vigoureusement le tube manuellement ou à l'aide de vortex à vitesse maximale pendant 20–30 secondes.
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 l'essai des matériaux solides, ustensiles ou 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.

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 la bandelette.
4. 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 profondément – voir le schéma ci-contre ➔
5. Laisser tremper la bandelette pendant ***20 à 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 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 – Moutarde, 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.

POUR UNE DUTSCHER 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