

Disp&FLOW® – Ail

Test rapide de détection de protéine spécifique

N° cat. : BIO.039.1

Nombre de test : 1



Test immuno-chromatographique rapide pour la détermination qualitative d'antigène d'ail présent dans les aliments, les cuisines et les installations de production des denrées alimentaires.

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

Principe de fonctionnement

L'ail (*Allium sativum*) appartient au genre *Allium* qui regroupe des plantes de la famille des Amaryllidacées (certains auteurs l'ont classé dans les Liliacées). Dans l'alimentation humaine, c'est un genre important qui comprend de nombreuses plantes alimentaires, condimentaires et aux vertus médicinales. L'oignon, l'échalote, le poireau et la ciboulette appartiennent également à ce genre. Il y a deux sous-espèces d'ail cultivé et certains scientifiques les considèrent comme de véritables espèces distinctes. En plus des plantes cultivées, on peut mentionner certaines plantes sauvages (ainsi l'ail ou l'oignon dits sauvages) qu'on retrouve assez fréquemment dans les jardins d'ornement.

L'allergie à l'ail peut se manifester par une grande 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 patients allergiques à l'ail pourront être testés positifs à différentes molécules, de plus ou moins grands poids moléculaires, telles que le disulfure diallylique, le disulfure d'allyle et de propyle, le mercaptan d'allyle et l'alicine.

Le test Disp&FLOW – Ail 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 – Ail met en œuvre une paire d'anticorps monoclonaux permettant de détecter l'un des constituants majeurs de l'enzyme alliinase, un antigène spécifique de l'ail ; l'épitope reconnu est distinct de l'enzyme homologue trouvée dans certaines espèces proches telles que l'oignon ou d'autres membres de la famille des Amaryllidacées. Cet antigène est en outre résistant à la chaleur. Il est à noter que l'enzyme alliinase n'est pas à la source de l'allergie *per se*. C'est la réaction enzymatique qui génère au moins l'une des substances allergisantes majeures liées à l'ail, l'alicine. Par le lien univoque de cause à effet entre l'enzyme et son produit, l'alliinase peut



servir de marqueur fiable de la présence d'allergène spécifique de l'ail dans les produits alimentaires complexes.

Le test Disp&FLOW – Ail détecte les antigènes de tous les cultivars (variétés d'aux cultivés) testés à ce jour ; il réagit positivement, non seulement avec le bulbe (gousse), mais aussi avec les autres parties de la plante, y compris les feuilles et l'inflorescence (ainsi que la spathe qui l'enveloppe avant maturation). Le test Disp&FLOW – Ail ne détecte pas la présence d'oignon, d'autres végétaux, de légumes, de noix, d'épices et de céréales.

La sensibilité du test Disp&FLOW – Ail pour l'antigène cible est évaluée à 20 ppm de poids humide (ou 5 ppm de poids sec) mesurée après extraction suivant le protocole décrit dans cette notice, en poids d'antigène par poids d'ail non transformé ; la gamme d'utilisation est de 20 – 20 000 ppm (poids humide) ou 5 – 5 000 ppm (poids sec). La sensibilité du test Disp&FLOW – Ail décroît avec la modification de la préparation alimentaire par chauffage (cuisson) ainsi que lors de mélange à des ingrédients riches en matière grasse (e.g. crème, beurre, huiles végétales).

Des données détaillées et actualisées sur la spécificité et la sensibilité du test Disp&FLOW – Ail peuvent être demandées sur notre messagerie info@biotem.fr

Si le résultat du test est une ligne peu distinguable ou difficilement interprétable, BIOTEM recommande de tester de nouveau l'échantillon au laboratoire en utilisant des méthodes quantitatives, par exemple les tests ELISA ou la PCR.

Contenu du kit

Le test Disp&FLOW – Ail 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.

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 ni 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 – Ail 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, migre difficilement 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 laissez sédimenter le contenu du tube ou centrifugez à faible vitesse dans une centrifugeuse, le surnageant est alors prêt pour les essais.

Les produits en poudre doivent être testés en utilisant la procédure suivante:

1. Peser approximativement 0.5 g de la matière sèche à introduire dans le tube contenant le tampon de dilution / extraction.
2. Sceller hermétiquement le tube avec le bouchon.
3. Agitez vigoureusement le tube manuellement ou à l'aide de vortex à vitesse maximale pendant 25 – 30 secondes.
4. Poser le tube à la verticale sur un support et laissez sédimenter le contenu du tube ou centrifugez à faible vitesse dans une centrifugeuse, le surnageant est alors prêt pour les essais.

Pour l'essai des matériaux solides, surface d'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.

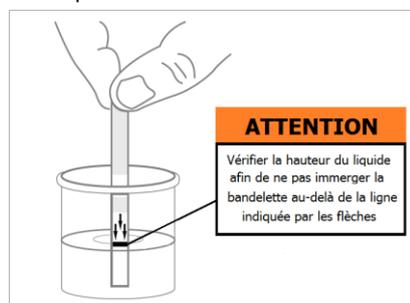
2. Pour les ustensiles ou les autres tests de surfaces, se munir de l'écouvillon fourni et le passer sur la surface de l'objet à analyser en effectuant un mouvement croisé, dans un sens puis dans l'autre, puis en diagonale. Insérer ensuite l'écouvillon dans le tube-test et l'agiter pendant 10 à 15 secondes 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.

Les différents échantillons peuvent être conservés entre +2 et +8°C pendant 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 profondément – voir le schéma ci-contre →
3. Laisser tremper la bandelette pendant 10 à 15 secondes puis la placer sur une surface PROPRE et horizontale ; ne pas toucher ou déplacer la bandelette 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 – Ail, 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.