

Disp&FLOW® – Poisson

Test rapide de détection de protéine spécifique

N° cat. : BIO.032.1
Nombre de test : 1



Test immuno-chromatographique rapide pour la détermination qualitative de l'antigène spécifique du poisson présent dans les aliments, la cuisine et les installations de production de denrées alimentaires.

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

Disp&FLOW – Poisson peut être également utilisé pour s'assurer des conditions de stockage et de conservation du poisson. Il permet en effet de détecter la fuite de l'antigène spécifique du poisson sur la surface et les contenants, synonyme de rupture de la chaîne du froid et donc d'une probable avarie de l'aliment à base de poisson.

Principe de fonctionnement

Les protéines de poisson sont parmi les principaux allergènes alimentaires. En raison de l'utilisation accrue des fruits de mer dans l'industrie agroalimentaire, les consom-mateurs allergiques au poisson prennent de plus en plus de risques de réactions graves, voire mortelles, en raison du mauvais étiquetage des produits. La présence potentielle des allergènes alimentaires doit obligatoirement être indiquée sur l'emballage.

Ce test est basé sur le principe de l'immuno-chromatographie rapide sur bandelette (migration à flux latéral ou *lateral flow*). L'antigène cible (muscle strié du poisson) 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

Disp&FLOW – Poisson utilise une combinaison unique d'anticorps qui permet de détecter un antigène commun présent chez TOUS les poissons vertébrés.

Disp&FLOW – Poisson détecte aussi un antigène présent chez les poissons cartilagineux (requins et les esturgeons), mais avec une sensibilité nettement moindre.

Disp&FLOW – Poisson ne détecte pas les antigènes des fruits de mer, ainsi que ceux des crevettes, du homard et du crabe. Des données détaillées et actualisées sur la spécificité du test Disp&FLOW – Poisson peuvent être demandées sur notre messagerie info@biotem.fr.

La sensibilité du test Disp&FLOW – Poisson est de 1 milligramme par kilogramme dans les préparations alimentaires

solides et de 1 milligramme par litre dans les préparations alimentaires solides ou liquides (1ppm).

Cette valeur est néanmoins variable en fonction des différentes espèces testées (ex : 5ng/ml pour l'espèce gadus (morue))

La sensibilité du test Disp&FLOW – Poisson peut être aussi influencée par la dilution de la préparation, l'échauffement préalable de la matière à tester et par sa teneur en matières grasses.

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.

Lorsque le test Disp&FLOW – Poisson est utilisé sur des homogénats apparents de poisson ou du jus/bouillon/soupe de poisson, le test peut montrer un résultat paradoxalement négatif en raison d'une concentration d'antigène trop importante (phénomène de l'effet Hook). Dans ce cas, tester de nouveau l'échantillon, en réalisant une dilution préalable.

Contenu du kit

Le test Disp&FLOW – Poisson 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 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 – Poisson ne contient que des éléments à usage unique ; ne pas réutiliser.

Élimination des déchets

- Éliminer 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. À 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. À 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.

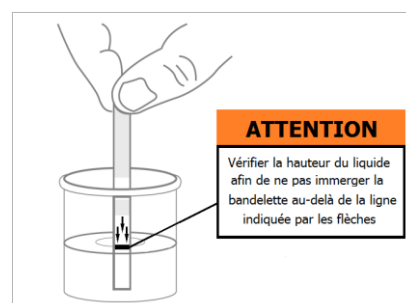
4. Agiter vigoureusement le tube manuellement ou à l'aide de vortex à vitesse maximale pendant 25–30 secondes.
5. Poser le tube à la verticale sur un support et laisser sédimenter le contenu du tube ou centrifuger à faible vitesse dans une centrifugeuse, le surnageant est alors prêt pour les essais.

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 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 – Poisson, 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.