Kit AlerTox® ELISA Pistache

Pour la détection quantitative des protéines de pistache dans les produits alimentaires

REF KIT3054 (96 réactions)

Table des matières

1. Introduction 3
   1.1 Sensibilité et spécificité du test 3
   1.2 Préparation de l'échantillon 4
   1.3 Principe du test 4
2. Matériaux et stockage 4
   2.1 Matériel fourni dans le kit 4
   2.2 Conditions de stockage et stabilité 4
   2.3 Matériel requis mais non fourni 5
   2.4 Matériel/équipement facultatif 5
3. Procédure de test 5
   3.1 Préparation des réactifs 5
      3.1.1 Tampon d'extraction et de dilution des échantillons 6
      3.1.2 Solution de lavage 6
      3.1.3 Plaque ELISA 6
   3.2 Préparation de l'échantillon 6
      3.2.1 Vue d'ensemble du flux de travail 7
   3.3 Procédure ELISA 7
      3.3.1 Vue d'ensemble du flux de travail 9
4. Calculs des résultats 9
5. Précautions générales 10
6. Informations complémentaires 11
   6.1 Compatibilité de l'extraction des échantillons 11
   6.2 Kit AlerTox ELISA Pistache 12
      6.2.1 Résumé des spécifications 12
      6.2.2 Récupération 12
      6.2.3 Réactivité non croisée 13
7. Exemple de schéma d'essai 14
8. Références 14
9. Clause de non-responsabilité 14
10. Informations sur le contact 15
11. Indice de changement 15

Annexe A. Procédures d'extraction d'échantillons spécialisés 16
   A.1 Pour les aliments et boissons contenant des polyphénols, des tanins ou des antioxydants 16
   A.2 Pour l'eau de rinçage ou l'eau de nettoyage (kits AlerTox ELISA Noisette et Pistache) 17

1. Introduction

Les allergies aux fruits à coque (pistaches, amandes, noix de cajou, noisettes, macadamias, noix de pécan et noix) apparaissent souvent avant l'âge de deux ans et ne disparaissent généralement pas une fois développées. La prévalence des allergies aux fruits à coque est comprise entre 1 et 3 % dans le monde, mais elle peut varier considérablement d'une région à l'autre et en fonction de l'âge. Environ 30 % des personnes allergiques aux fruits à coque sont allergiques à plus d'un fruit à coque, et 20 à 30 % des personnes allergiques aux arachides sont allergiques à un ou plusieurs fruits à coque.

Les pistaches contiennent environ 21 % de protéines. Il existe au moins cinq protéines allergènes, dont certaines sont résistantes à la chaleur, ce qui les rend stables à divers processus de production. Les fruits à coque étant l'une des principales causes d'anaphylaxie mortelle, ils sont considérés comme l'un des "9 grands" allergènes nécessitant une détection précise et fiable pour la sécurité des consommateurs et le respect des réglementations en matière d'étiquetage des denrées alimentaires.

Outre le kit AlerTox® ELISA Pistaches, certains fabricants peuvent souhaiter utiliser des kits AlerTox ELISA pour d'autres fruits à coque, notamment les amandes, les noix de cajou, les noisettes, les macadamias et les noix. Des kits AlerTox ELISA Arachides et Coco sont également disponibles. La même préparation d'échantillon peut être utilisée pour tous les tests AlerTox ELISA mentionnés ci-dessus.

Note: Lisez attentivement ce manuel avant de commencer le test. Le test doit être effectué par du personnel dûment formé.

1.1 Sensibilité et spécificité du test

Le kit AlerTox ELISA Pistache détecte et quantifie les protéines de pistache dans les aliments, tels que les gâteaux, le chocolat, les desserts, les pâtisseries, les pralines, les puddings, les yaourts et autres denrées alimentaires qui peuvent être crues, chauffées ou cuites. En outre, ce kit peut traiter des échantillons d'eau de rinçage ou de nettoyage en place (CIP). La limite de détection (LOD) est de 0,07 ppm (mg de pistache entière par kg ou L d'échantillon), la limite de quantification (LOQ) est de 1,0 ppm de pistache entière (mg/kg ou mg/L) et la détection est quantitative entre 1,0 et 25 ppm (voir *section 6.2.1, Résumé des spécifications*, pour plus de détails). Voir la *section 4, Calculs des résultats*, pour plus de détails sur l'expression des résultats.

La réactivité croisée avec d'autres matrices alimentaires est indiquée dans le tableau suivant:

Matrice de réactivité croisée	Pourcentage de réactivité croisée (%)
Noix de cajou	0,0016
Moutarde, jaune	0,0005
Graines de lin	0,0002
Raifort	0,0002
Colza	0,0001

Remarque: les amandes, le chia, les noisettes, les noix de pécan, les radis, les noix du Brésil, les pois chiches, les poireaux, les graines de pavot, les pois cassés, les choux (blancs), le fenugrec, le macadamia, les graines de citrouille et les noix ont donné des résultats compris entre 0,5 LOD et 1 LOD et peuvent fournir des valeurs supérieures à la LQ.

Voir la *section 6.2.2, Récupération* et la *section 6.2.3, Réactivité non croisée*, pour des données supplémentaires.

Important: Ne pas modifier le protocole en ce qui concerne le temps, les températures, le lavage des plaques, les volumes de pipetage, les types de tampons ou les valeurs de pH des tampons. Toute modification du protocole invalidera le système d'essai.

1.2 Préparation de l'échantillon

Le kit AlerTox ELISA Pistache fait partie d'une série de vingt kits de tests d'allergènes de Hygiena®. Seize allergènes différents, y compris les pistaches, peuvent être détectés et mesurés à l'aide d'un seul extrait d'échantillon avec ces différents tests ELISA spécifiques aux allergènes, tandis que quelques-uns nécessitent des extractions individuelles. Voir la *section 6.1, Compatibilité des extractions d'échantillons*, pour plus de détails.

1.3 Principe du test

Le kit AlerTox ELISA Pistache fonctionne sur le principe d'un ELISA sandwich quantitatif. La concentration en antigène est directement proportionnelle à l'intensité de la couleur de l'échantillon testé. Voici un bref aperçu du test ELISA sandwich:

1. Des anticorps primaires dirigés contre les protéines de pistache sont fixés à la surface d'une plaque de microtitration. Des étalons ou des échantillons de test contenant des pistaches sont placés dans les puits de la plaque de microtitration. Après une incubation de 20 minutes à température ambiante (15 à 25 °C, 59 à 77 °F), les puits sont lavés avec une solution de lavage pour éliminer le matériel non lié.
2. Des anticorps secondaires conjugués à la peroxydase et dirigés contre les protéines de pistache sont placés dans les puits et, après une seconde incubation de 20 minutes, la plaque est à nouveau lavée.
3. La solution de substrat est ajoutée et la plaque est incubée pendant 20 minutes supplémentaires, ce qui entraîne le développement d'une couleur bleue dans les puits positifs. L'ajout de la solution d'arrêt inhibe la poursuite du développement de la couleur, qui devient jaune. La couleur jaune est mesurée par photométrie à 450 nm ($OD_{450\ nm}$).

2. Matériaux et stockage

2.1 Matériel fourni dans le kit

Objet	Description	96 puits
1	Bandes sécables de 8 puits, chacune recouverte d'anticorps primaires anti-pistache. Dans un sachet d'aluminium refermable contenant un cadre et un agent de séchage. Prêt à l'emploi.	12 bandes
2	5 AlerTox Pistachio Standards, concentrations: 0 - 1 - 5 - 12,5 - 25 ppm. Prêt à l'emploi.	5 x 3 ml
3	Conjugué: Anticorps secondaires anti-pistache conjugués à la peroxydase. Prêt à l'emploi.	1 x 15 ml
4	Solution de substrat contenant du triméthylbenzène (TMB). Prêt à l'emploi.	1 x 15 ml
5	Solution d'arrêt, contenant de l'acide sulfurique (H_2SO_4). Prêt à l'emploi.	1 x 15 ml
6	Tampon d'extraction et de dilution des échantillons 10X.	4 x 30 ml
7	Solution de lavage 10X.	2 x 60 ml

2.2 Conditions de stockage et stabilité

- Tous les composants du kit doivent être conservés à l'abri de la lumière, à une température comprise entre 2 et 8 °C (36 et 46 °F). NE PAS CONGELER.
- Ramener tous les réactifs à une température comprise entre 2 et 8 °C (36 et 46 °F) immédiatement après leur utilisation.

- La solution de lavage diluée (1X) peut être utilisée pendant 4 semaines si elle est conservée à une température comprise entre 2 et 8 °C (36 et 46 °F).

  Important: si nécessaire, redissoudre les précipitants en réchauffant la solution de lavage 10X à 37 °C (99 °F) pendant 15 minutes avant de la diluer. Ne pas utiliser le tampon si le précipitant ne se redissout pas.

- Le tampon d'extraction et de dilution d'échantillon dilué (1X) peut être utilisé pendant une semaine s'il est conservé entre 2 et 8 °C (36 et 46 °F).

  Important: si nécessaire, redissoudre les précipitants en réchauffant le tampon d'extraction et de dilution d'échantillons 10X à 37 °C (99 °F) pendant 15 minutes avant la dilution. Ne pas utiliser le tampon si le précipitant ne se redissout pas.

- Les extraits d'échantillons sont stables pendant au moins 24 heures entre 2 et 8 °C (36 et 46 °F) ou plus longtemps lorsqu'ils sont congelés.

2.3 Matériel requis mais non fourni

- AlerTox Polyphenol Additive (N° de produit ASY3213), uniquement pour les échantillons contenant des polyphénols et des antioxydants*.
- Pipette multicanaux: 50 - 200 µL
- Embouts de pipette stériles
- Pipettes: 10 - 100 µl, 100 - 1 000 µl
- Bain-marie, réglable à 60 °C (140 °F)
- Récipients de 15 à 30 ml pour les extractions
- Lecteur de plaque ELISA avec filtre (450 nm) (Absorbance 96 ELISA Reader, N° de produit MCH3005, ou similaire)
- Centrifugeuse
- Eau distillée
- Broyeur, moulin, mortier, mélangeur, etc.
- Mélangeur à vortex

* Le chocolat, le thé, le café, le vin, le maïs violet et les fibres de maïs, le soja, les baies et les légumineuses, telles que les pois chiches ou les lentilles, sont des exemples d'aliments riches en polyphénols, y compris en tanins, et en antioxydants.

2.4 Matériel/équipement facultatif

- Homogénéisateur pour l'extraction des échantillons
- Pipette à répétition pour minimiser la dérive de l'essai
- *Recommandé:* Un système de lavage de plaques ELISA pour réduire le temps de lavage et améliorer la cohérence.

Les kits ELISA AlerTox ont été validés sur des systèmes ELISA entièrement automatisés (tels que le robot ELISA automatisé BEAR). Pour plus de détails sur la validation, contactez-nous à l'adresse suivante: www.hygiena.com/support.

3. Procédure de test

3.1 Préparation des réactifs

Nous conseillons de préparer les réactifs immédiatement avant leur utilisation et de ne préparer que la quantité nécessaire pour le nombre d'échantillons plus les 5 standards. Il est recommandé de réaliser des mesures en double pour chaque échantillon et chaque étalon, conformément aux bonnes pratiques de laboratoire (BPL) et aux exigences en matière de contrôle de la qualité.

Important: tous les réactifs doivent être à température ambiante (15 à 25 °C, 59 à 77 °F) au moment de leur utilisation.

3.1.1 Tampon d'extraction et de dilution des échantillons

Diluer le tampon d'extraction et de dilution d'échantillon 10X 1:10 avec de l'eau distillée pour créer la solution 1X.

Important: si nécessaire, redissoudre les précipitants en réchauffant le tampon d'extraction et de dilution d'échantillons 10X à 37 °C (99 °F) pendant 15 minutes avant la dilution. Ne pas utiliser le tampon si le précipitant ne se redissout pas.

Remarque: Vous aurez besoin des quantités suivantes pour chaque échantillon de votre test:

Type d'échantillon	Quantité d'échantillon	Quantité de tampon d'extraction et de dilution d'échantillon 1X
Solide	0,5 g	10 ml
Liquide	0,5 ml	9,5 ml

3.1.2 Solution de lavage

Diluer la solution de lavage 10X 1:10 avec de l'eau distillée pour obtenir la solution 1X.

Important: si nécessaire, redissoudre les précipitants en réchauffant la solution de lavage 10X à 37 °C (99 °F) pendant 15 minutes avant de la diluer. Ne pas utiliser le tampon si le précipitant ne se redissout pas.

Remarque: Vous aurez besoin d'environ 2,5 ml de solution de lavage 1X par puits.

3.1.3 Plaque ELISA

Pour préparer la plaque ELISA, ouvrez le sachet en aluminium, retirez le nombre de bandes nécessaires pour effectuer les tests (échantillons plus les 5 étalons, tous en double) et placez les bandes dans un cadre.

Remarques:

- Lorsque vous ouvrez le sachet d'aluminium pour la première fois, veillez à ne pas couper la fermeture à glissière du sachet.
- Les puits non utilisés doivent être conservés dans le sac en aluminium avec l'agent de séchage à une température comprise entre 2 et 8 °C (36 et 46 °F). S'assurer que la fermeture à glissière du sac en aluminium est hermétiquement fermée.

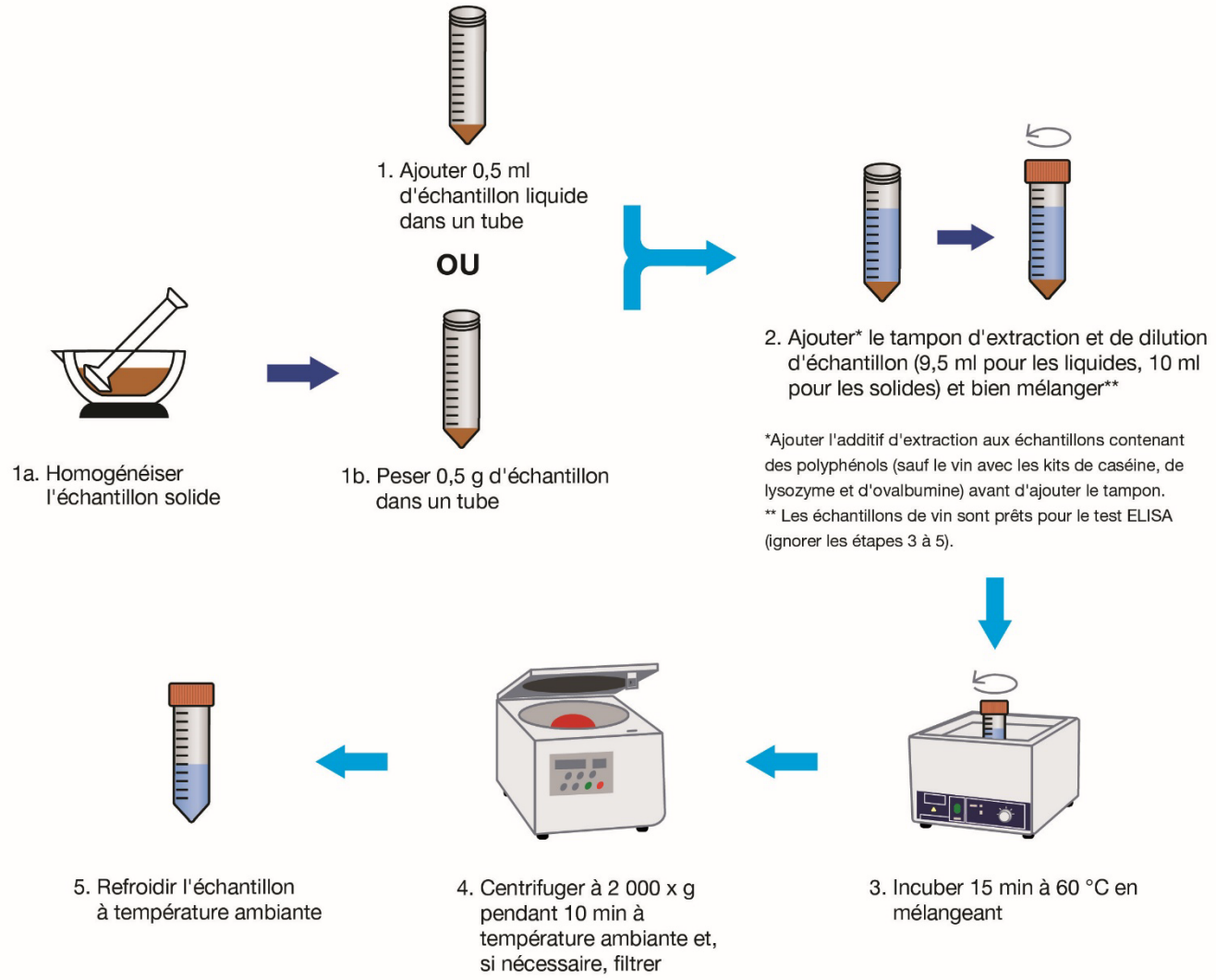
3.2 Préparation de l'échantillon

Important: voir l'*annexe A* pour le protocole de préparation des échantillons contenant des polyphénols, des tanins, ou des antioxydants, ainsi que pour l'eau de rinçage ou de nettoyage en place (NEP). Pour les autres échantillons, suivre la procédure ci-dessous:

1. Remettre l'échantillon en suspension dans le tampon d'extraction et de dilution de l'échantillon 1X en fonction du type d'échantillon:
    a. Pour les échantillons solides:
        i. Maximiser l'homogénéité de l'échantillon en pulvérisant finement un minimum de 5 g d'échantillon dans un mortier, un broyeur à percussion ou un dispositif similaire.
        ii. Remettre en suspension 0,5 g du mélange homogénéisé dans 10 ml de tampon d'extraction et de dilution d'échantillon 1X.
    b. Pour les échantillons liquides:
        i. Ajouter 0,5 ml de l'échantillon liquide à 9,5 ml de tampon d'extraction et de dilution de l'échantillon 1X.

2. Bien mélanger.
3. Incuber le mélange pendant 15 minutes dans un bain-marie préchauffé à 60 °C (140 °F), en agitant les échantillons toutes les 2 minutes pour garantir l'homogénéité.
4. Centrifuger le mélange pendant 10 minutes à 2 000 x *g* à température ambiante (15 à 25 °C, 59 à 77 °F). Si le surnageant n'est toujours pas complètement séparé du précipité, filtrer le surnageant.
5. Refroidir l'extrait d'échantillon (surnageant ou filtrat) à température ambiante (15 à 25 °C, 59 à 77 °F).

3.2.1 Vue d'ensemble du flux de travail



Important: consultez les instructions spéciales pour l'extraction d'échantillons pour les kits AlerTox ELISA Caséine, Crustacés, Poisson, Histamine, Lysozyme et Lait.

3.3 Procédure ELISA

Important: les points les plus critiques de la procédure ELISA sont la température, le temps et le lavage de la plaque. Un lavage insuffisant entraîne une mauvaise précision et des résultats erronés.

Remarque: Pour une meilleure reproductibilité, nous recommandons l'utilisation d'un laveur de plaques automatisé et bien entretenu pour les étapes 3 et 6 ci-dessous.

1. Ajouter 100 µL des étalons ou des extraits d'échantillons en double dans les puits appropriés de la plaque de microtitration.

   Remarque: voir la *section 7, Exemple de schéma d'essai*. Si vous avez un grand nombre d'échantillons, pipettez un jeu d'étalons avant les échantillons et le double du jeu d'étalons après les échantillons et utilisez les valeurs moyennes arithmétiques pour les calculs.

2. Incuber pendant 20 minutes à température ambiante (15 à 25° C, 59 à 77° F).

   Important: Ne pas agiter la plaque pendant cette incubation.

3. Laver les plaques **trois (3)** fois avec 300 µL de solution de lavage 1X par puits.

   Remarque: à la fin du lavage automatisé ou entre chaque lavage manuel, inverser les plaques et les frapper contre des serviettes en papier propres et sèches pour vider les puits et éliminer le liquide résiduel.

4. Ajouter 100 µL de solution conjuguée dans chaque puits.

5. Incuber pendant 20 minutes à température ambiante (15 à 25° C, 59 à 77° F).

   Important: Ne pas agiter la plaque pendant cette incubation.

6. Laver les plaques **cinq (5)** fois avec 300 µL de solution de lavage 1X par puits.

   Remarque: à la fin du lavage automatisé ou entre chaque lavage manuel, inverser les plaques et les frapper contre des serviettes en papier propres et sèches pour vider les puits et éliminer le liquide résiduel.

7. Pipeter 100 µL de solution de substrat dans chaque puits.

8. Laisser la réaction se développer dans l'obscurité (le substrat est sensible à la lumière) pendant 20 minutes à température ambiante (15 à 25° C, 59 à 77° F).

   Important: Ne pas agiter la plaque pendant cette incubation.

9. Arrêter la réaction enzymatique en ajoutant 100 µL de solution d'arrêt (0,5 M H_2SO_4) dans chaque puits.

10. Agiter doucement la plaque à la main et attendre 1 minute.

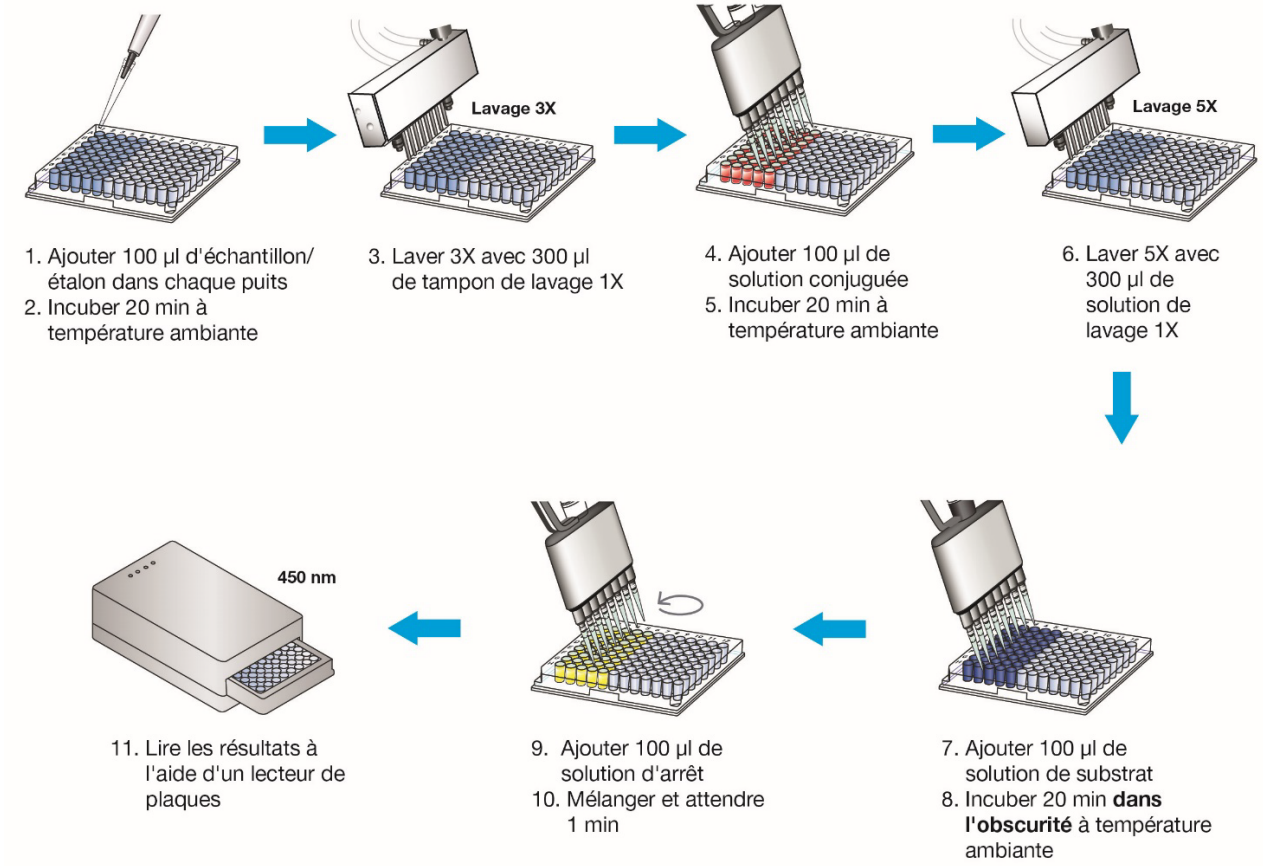
    Remarque: Les puits contenant de la couleur bleue deviennent jaunes en présence de la protéine de pistache.

11. Pour mesurer les résultats, utiliser un lecteur de plaque ELISA avec un filtre de 450 nm ($OD_{450\,nm}$), en suivant les instructions du fabricant de l'instrument.

    Remarque: Mesurer le changement de couleur dans les 30 minutes.

    Important: si les résultats d'un échantillon se situent en dehors de la plage de la courbe de l'étalon de pistache, ne pas extrapoler les données. Au lieu de cela, diluer davantage l'extrait d'échantillon avec le tampon d'extraction et de dilution d'échantillon 1X et répéter le test ELISA en utilisant cet extrait d'échantillon dilué et les étalons, en double.

3.3.1 Vue d'ensemble du flux de travail



4. Calculs des résultats

Les résultats sont mesurés concentrations de pistaches entières et non de protéines de pistaches. Voir les étapes 4 et 5 ci-dessous pour les facteurs de conversion permettant de calculer les résultats pour les concentrations d'eau de rinçage/CIP ou de protéines de pistache, respectivement.

Les normes sont préparées pour une détermination directe des concentrations de pistaches entières dans les échantillons. La dilution des échantillons dans le processus d'extraction, telle que décrite dans les procédures de préparation des échantillons, est déjà prise en considération lors du calcul des niveaux. Toutefois, les résultats doivent tenir compte de toute dilution supplémentaire (par exemple, due à une concentration élevée de l'échantillon ou à d'autres procédures d'extraction de l'échantillon) (étape 4, notes ci-dessous). Utiliser la *feuille de calcul AlerTox ELISA* (disponible à l'adresse www.hygiena.com/documents) ou les instructions suivantes pour calculer les résultats.

Important: Ne pas utiliser la *feuille de calcul AlerTox ELISA* si l'étalon zéro du logiciel du lecteur de plaque est défini comme le blanc pour le calcul de B - B_0.

Lors de l'interprétation des résultats, la moyenne arithmétique est utilisée pour les calculs.

1. Calculer la valeur moyenne de la DO ($DO_{450\ nm}$) pour chaque série d'étalons de référence en double et d'échantillons en double.
2. Soustraire la valeur moyenne de l'étalon zéro de chaque valeur moyenne de DO des étalons ou des échantillons (OD - $OD_{Standard\ 0}$ = B - B_0). Voir ci-dessous, *Exemple de données d'essai*.

   Important: si le standard zéro du logiciel du lecteur de plaques est défini comme le blanc pour le calcul de B - B_0, sauter cette étape.

3. Pour créer la courbe standard, tracer les valeurs ajustées de la densité optique des étalons 1 à 4 sur l'axe des ordonnées en fonction de la concentration de pistaches entières en ppm sur l'axe des abscisses. Voir ci-dessous *l'exemple d'une courbe standard typique*.
4. Pour chaque extrait d'échantillon, trouver la valeur B - B_0 sur l'axe des y. Lire ensuite la valeur correspondante sur l'axe des x de la courbe standard pour déterminer la concentration de pistache entière.

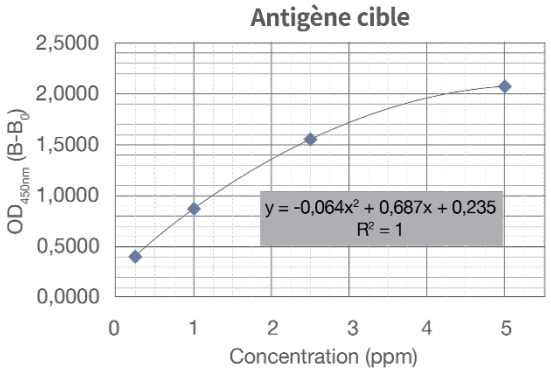
   Remarques:

   - Lors de l'utilisation de la procédure standard de préparation des échantillons (section 3.2), *il n'est pas* nécessaire de multiplier la concentration résultante de l'échantillon de denrée alimentaire par le facteur de dilution de 20.
   - Lors de l'analyse de l'eau de rinçage ou de NEP, diviser le résultat par 4 pour compenser le facteur de dilution utilisé pour cette procédure d'extraction. (La concentration de l'échantillon sera exprimée en mg/L.)
5. Pour convertir les ppm de pistaches entières en ppm de protéines de pistaches, diviser les résultats par 4,9 [1].

Exemple de données d'essai

Standard	Antigène cible [ppm]	OD_{450nm} moyenne	B - B_0
Zéro	0,0	0,108	-
1	2,0	0,265	0,157
2	10,0	0,606	0,498
3	25,0	1,193	1,085
4	50,0	1,928	1,820

Exemple de courbe standard typique



5. Précautions générales

- Si votre peau entre en contact avec des substances toxiques ou irritantes, rincez la zone affectée avec beaucoup d'eau et consultez un médecin si nécessaire. Veuillez consulter la FDS, disponible à l'adresse suivante: www.hygiena.com/SDS.
  - La solution de substrat contient du TMB, qui est hautement toxique en cas d'inhalation, d'ingestion ou de contact avec la peau. Veuillez vous référer à la FDS.
  - La solution d'arrêt contient du H_2SO_4, qui est corrosif. Veuillez vous référer à la FDS.
- Manipuler le kit de test conformément aux BPL.
  - Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption du kit.
  - Manipuler toutes les solutions avec des gants.
  - Pendant l'extraction de l'échantillon, éviter toute contamination croisée.
  - Les appareils, tels que le mixeur, doivent être nettoyés après chaque préparation d'échantillon.
  - Utiliser des pointes de pipette stériles.
  - Ne pas échanger les bouchons des flacons de réactifs.
  - Ne pas interchanger les réactifs entre des kits portant des numéros de lots différents.

- Ne pas modifier les réactifs. Cela pourrait entraîner des résultats inexacts.
- Tous les réactifs doivent être équilibrés à température ambiante (15 à 25 °C, 59 à 77 °F) avant d'être utilisés.
- Ne pas utiliser les solutions si elles deviennent troubles ou si elles précipitent. Les seules exceptions sont la solution de lavage 10X et le tampon d'extraction et de dilution d'échantillon 10X, qui peuvent contenir des précipitants cristallins devant être complètement dissous avant d'être utilisés (voir section 2.2).
- La solution de substrat est sensible à la lumière. Éviter l'exposition à la lumière directe et conserver dans l'obscurité.
- N'utiliser que de l'eau distillée pour la dilution des tampons concentrés.
- Ne pas laisser les puits sécher complètement.
- Éviter d'incuber les plaques de microtitration sur des paillasses froides.

6. Informations complémentaires

6.1 Compatibilité de l'extraction des échantillons

Les kits AlerTox ELISA suivants partagent le même protocole de préparation de l'échantillon, ce qui signifie que l'extrait de l'échantillon peut être testé à l'aide de 16 tests ELISA différents:

Extractions d'échantillons compatibles			
AlerTox ELISA Almond	AlerTox ELISA BLG*	AlerTox ELISA Cashew	AlerTox ELISA Coconut
AlerTox ELISA Egg	AlerTox ELISA Hazelnut	AlerTox ELISA Lupin	AlerTox ELISA Lysozyme†
AlerTox ELISA Macadamia	AlerTox ELISA Mustard	AlerTox ELISA Ovalbumin	AlerTox ELISA Peanut
AlerTox ELISA Pistachio	AlerTox ELISA Sesame	AlerTox ELISA Soy (STI‡)	AlerTox ELISA Walnut

* BLG = β-lactoglobuline

† Seul l'extrait de vin est compatible. (Les extraits de fromage et d'autres aliments ne sont pas compatibles).

‡ STI = Inhibiteur de trypsine de soja

Les échantillons individuels doivent être extraits séparément lors de l'utilisation des kits suivants:

Extractions d'échantillons individuels nécessaires		
AlerTox ELISA Casein	AlerTox ELISA Crustacean	AlerTox ELISA Fish
AlerTox ELISA Histamine*	AlerTox ELISA Lysozyme†	AlerTox ELISA Milk

* Le kit AlerTox ELISA Histamine est basé sur un test ELISA compétitif, alors que tous les autres kits AlerTox ELISA sont basés sur des tests ELISA sandwich.

† Les fromages et autres échantillons alimentaires, à l'exception du vin, doivent être extraits séparément.

6.2 Kit AlerTox ELISA Pistache

6.2.1 Résumé des spécifications

Spécifications	AlerTox ELISA Pistache*
Résultats	Concentration de pistaches entières
Limite de détection (LD)	0,07 ppm
Limite de quantification (LOQ)	1,0 ppm
Gamme standard	0,0 - 25 ppm
Plage de quantification	1,0 - 25 ppm
Facteur de calcul †	Protéine de pistache [1] Diviser par 4.8

* ppm = mg de pistaches entières par kg ou L d'échantillon

† Utiliser le facteur de calcul pour convertir les résultats en concentration de protéines de pistache.

Pour les données d'analyse spécifiques au lot et les critères d'acceptation/de rejet des valeurs mesurées, voir le certificat d'analyse (www.hygiena.com/COA).

6.2.2 Récupération

Matrice*	Récupération (%)
Chocolat	80
Cookies	90
Cornflakes	78
Compléments alimentaires	72
Glaces	86
Épices	80

* Testé dans des matrices typiques.

6.2.3 Réactivité non croisée

Parmi les matrices testées, les suivantes se sont révélées ne pas présenter de réaction croisée avec le kit AlerTox ELISA Pistache:

Matrices non réactives croisées				
Haricot adzuki	Amande*	Abricot	Orge	Haricot blanc
Boeuf (cuit)	Viande bovine (crue)	Noix du Brésil*	Sarrasin	Chou, blanc*
Graines de carvi	Cardamome	Gomme de caroube	Carotte	Cayenne
Céleri	Cerise	Marron	Chia*	Poulet
Pois chiches*	Chili	Cannelle	Clou de girofle	Cacao
Noix de coco	Morue	Maïs	Cumin	Aneth
Canard	Œuf	Fenouil	Le fenugrec*	Cresson de fontaine
Ail (frais)	Ail (granulé)	Gélatine de vache	Gingembre (frais)	Gingembre (moulu)
Gliadine	Gomme de guar	Gomme arabique	Noisette*	Haricot rouge
Kiwi	Agneau	Poireau*	Lentilles	Lupin
Macadamia*	Lait, vache	Lait de chèvre	Lait de brebis	Muscade
Avoine	Oignon	Paprika	Pois	Pêche
Cacahuète	Noix de pécan	Poivre noir	Graines de pin	Graines de pavot*
Porc	Pommes de terre	Crevettes (cuites)	Crevette (crue)	Graines de citrouille*
Radis*	Riz	Seigle	Saccharose	Sésame
Crevettes	Farine de soja	Lécithine de soja	Pois cassés	Graines de tournesol
Thym	Tofu	Tomate	Turquie	Curcuma
Noyer*		Blé		

***** Les amandes, le chia, les noisettes, les noix de pécan, les radis, les noix du Brésil, les pois chiches, les poireaux, les graines de pavot, les pois cassés, les choux (blancs), le fenugrec, le macadamia, les graines de citrouille et les noix ont donné des résultats compris entre 0,5 LOD et 1 LOD et peuvent fournir des valeurs supérieures à la LQ.

7. Exemple de schéma d'essai

S0: Standard zéro (sans antigène): la valeur moyenne= B_0.

S1 - S4: Normes: la valeur moyenne= B.

SP: Échantillons: la valeur moyenne= B.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	**S0**	**S0**	SP4	SP4	SP12	SP12						
B	**S1**	**S1**	SP5	SP5	Etc.	Etc.						
C	**S2**	**S2**	SP6	SP6	Etc.	Etc.						
D	**S3**	**S3**	SP7	SP7	Etc.	Etc.						
E	**S4**	**S4**	SP8	SP8	Etc.	Etc.						
F	SP1	SP1	SP9	SP9	Etc.	Etc.						
G	SP2	SP2	SP10	SP10	Etc.	Etc.						
H	SP3	SP3	SP11	SP11	Etc.	Etc.						

8. Références

1. USDA, US Department of Agriculture (2023) Nuts, pistachio nuts, raw. https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/2515379/nutrients.

9. Clause de non-responsabilité

Domaine d'utilisation: Utiliser le produit Hygiena pour la recherche et le développement, l'assurance qualité et le contrôle qualité sous la supervision de personnes techniquement qualifiées. L'information générée par le produit Hygiena ne doit être utilisée qu'en conjonction avec le programme d'assurance qualité habituel de l'utilisateur. Le produit Hygiena ne doit pas être utilisé comme seule base d'évaluation de la sécurité des produits destinés aux consommateurs. Les données obtenues à partir du produit Hygiena ne doivent pas être utilisées à des fins de diagnostic ou de traitement humain. Avant d'utiliser le produit, lisez la *limitation de garantie et de responsabilité* (disponible dans les *termes et conditions générales de Hygiena* à www.hygiena.com/terms-and-conditions).

Ces produits sont fabriqués à partir de matières premières de haute qualité. Aucune garantie, expresse ou implicite, n'est donnée quant à leur aptitude à mesurer la teneur en antigènes cibles lorsqu'ils sont utilisés conformément à ces instructions, sauf en ce qui concerne la qualité de ces matériaux.

L'utilisation du kit à d'autres fins n'est pas conforme à l'usage prévu. Pour les matrices qui n'ont pas été validées auparavant, Hygiena ne peut pas garantir que le kit est adapté à l'usage et que les résultats obtenus pour ces matrices sont exacts. Les clients peuvent choisir d'utiliser le produit sur des matrices alimentaires ou de surface non validées ; cependant, Hygiena recommande fortement aux utilisateurs d'effectuer leurs propres tests d'aptitude à l'emploi pour confirmer l'adéquation et la performance dans leur application spécifique. Tous les dommages, y compris les dommages consécutifs ou spéciaux ou les dépenses découlant directement ou indirectement de l'utilisation de ce produit, sont limités à la valeur de remplacement du kit.

Pour plus d'information ou pour obtenir de l'aide avec la validation de la matrice, veuillez contacter Hygiena à www.hygiena.com/support. Tous les termes et conditions de Hygiena s'appliquent et peuvent être consultés à l'adresse suivante: www.hygiena.com/terms-and-conditions.

10. Informations sur le contact

Pour plus d'informations, visitez le site www.hygiena.com/contact. Pour obtenir une assistance technique, visitez le site www.hygiena.com/support.

11. Indice de changement

INS3022 REVD, juillet 2020
Clarification de certaines parties du tableau des facteurs de conversion.

INS-KIT3054-001-REVA, juin 2025
Mise à jour des données de récupération, des données de sélectivité et du numéro d'identification du document.
Inclusion de l'utilisation de l'additif polyphénolique AlerTox pour certaines préparations d'échantillons.

Annexe A. Procédures d'extraction d'échantillons spécialisés

A.1 Pour les aliments et boissons contenant des polyphénols, des tanins ou des antioxydants

Suivez ce protocole de préparation des échantillons lorsque vous testez des aliments et des boissons riches en polyphénols, y compris les tanins, et en antioxydants. Des exemples sont listés dans le tableau suivant:

Matrices représentatives		
Baies	Chocolat	Maïs, violet
Fibre de maïs	Café	Légumineuses (par exemple, pois chiches, lentilles)
Soja	Thé	Le vin

Important: cette procédure **ne doit pas** être utilisée avec les kits suivants:

- Kit AlerTox ELISA Crustacean
- Kit AlerTox ELISA Histamine
- Kit AlerTox ELISA Lysozyme
- Extraits de vin pour les kits suivants:
  - Kit AlerTox ELISA Casein
  - Kit AlerTox ELISA Ovalbumin

a. Pour les échantillons solides, maximiser l'homogénéité de l'échantillon en pulvérisant finement un minimum de 5 g d'échantillon dans un mortier, un broyeur à percussion ou un dispositif similaire.

Remarque: Pour les échantillons liquides, passer à l'étape b.

b. Mélanger l'échantillon avec l'additif polyphénolique AlerTox (N° de produit ASY3213) et le tampon d'extraction et de dilution de l'échantillon 1X, en fonction du kit utilisé:

i. Pour les kits AlerTox ELISA, à l'exception de Hazelnut et Pistachio: mélanger d'abord l'échantillon et l'additif polyphénolique AlerTox, puis ajouter 1X le tampon d'extraction et de dilution de l'échantillon (voir tableau ci-dessous) et bien mélanger.

ii. Pour les kits AlerTox ELISA Noisette et Pistache: Dissoudre 1 g d'additif polyphénolique AlerTox dans 100 ml de tampon d'extraction et de dilution d'échantillon 1X avant de mélanger avec la quantité d'échantillon spécifiée (voir tableau ci-dessous). de tampon d'extraction et de dilution d'échantillon 1X avant de mélanger avec la quantité d'échantillon spécifiée (voir tableau ci-dessous).

Kit	Échantillon	Additif polyphénolique AlerTox	Tampon d'extraction et de dilution des échantillons 1X
AlerTox ELISA Kits*	1 g (étape a, solide)	2 g	20 ml
	1 ml	2 g	19 ml
Kit AlerTox ELISA Milk	0,5 g (étape a, solide)	1 g	10 ml
	0,5 ml	1 g	9,5 ml
Kits AlerTox ELISA Hazelnut et Pistachio	0,5 g (étape a, solide)	10 ml	
	0,5 ml	9,5 ml	

* c'est-à-dire tous les kits AlerTox ELISA à l'exception de ceux qui sont spécifiques à la noisette, à la pistache, au lait ou de ceux qui sont exclus dans la note importante ci-dessus.

c. Incuber pendant 15 minutes dans un bain-marie préchauffé à 60 °C (140 °F), en agitant les échantillons toutes les 2 minutes pour garantir l'homogénéité.

d. Centrifuger pendant 10 minutes à ≥ 2 500 x *g*.

e. Si le surnageant n'est toujours pas complètement séparé des particules, filtrer le surnageant.

f. Procéder *à la procédure ELISA* (section 3.3).

Important: les calculs des résultats **ne** nécessitent **pas** d'ajustements supplémentaires du facteur de dilution pour cette procédure.

A.2 Pour l'eau de rinçage ou l'eau de nettoyage (kits AlerTox ELISA Noisette et Pistache)

a. Ajuster le pH de l'échantillon à 8,2 ± 0,5.

b. Diluer 1 ml de l'échantillon dans 4 ml de tampon d'extraction et de dilution de l'échantillon 1X.

c. Procéder *à la procédure ELISA* (section 3.3).

Hygiène

Camarillo, CA 93012

ÉTATS-UNIS

www.hygiena.com/support

Fabriqué par

Hygiena Diagnóstica España S.L.

P. I. Parque Plata

Calle Cañada Real 31 - 35

41900, Camas (Sevilla), Espagne

www.hygiena.com