

 Ce contenu a été archivé le 24 juin 2013.

Information archivée dans le Web

Information archivée dans le Web à des fins de consultation, de recherche ou de tenue de documents. Cette dernière n'a aucunement été modifiée ni mise à jour depuis sa date de mise en archive. Les pages archivées dans le Web ne sont pas assujetties aux normes qui s'appliquent aux sites Web du gouvernement du Canada. Conformément à la [Politique de communication du gouvernement du Canada](#), vous pouvez demander de recevoir cette information dans tout autre format de rechange à la page « [Contactez-nous](#) ».



Santé
Canada

Health
Canada

*Votre santé et votre
sécurité... notre priorité.*

*Your health and
safety... our priority.*

Bureau of Chemical Safety Food Directorate

Bureau d'innocuité des produits chimiques Direction des aliments

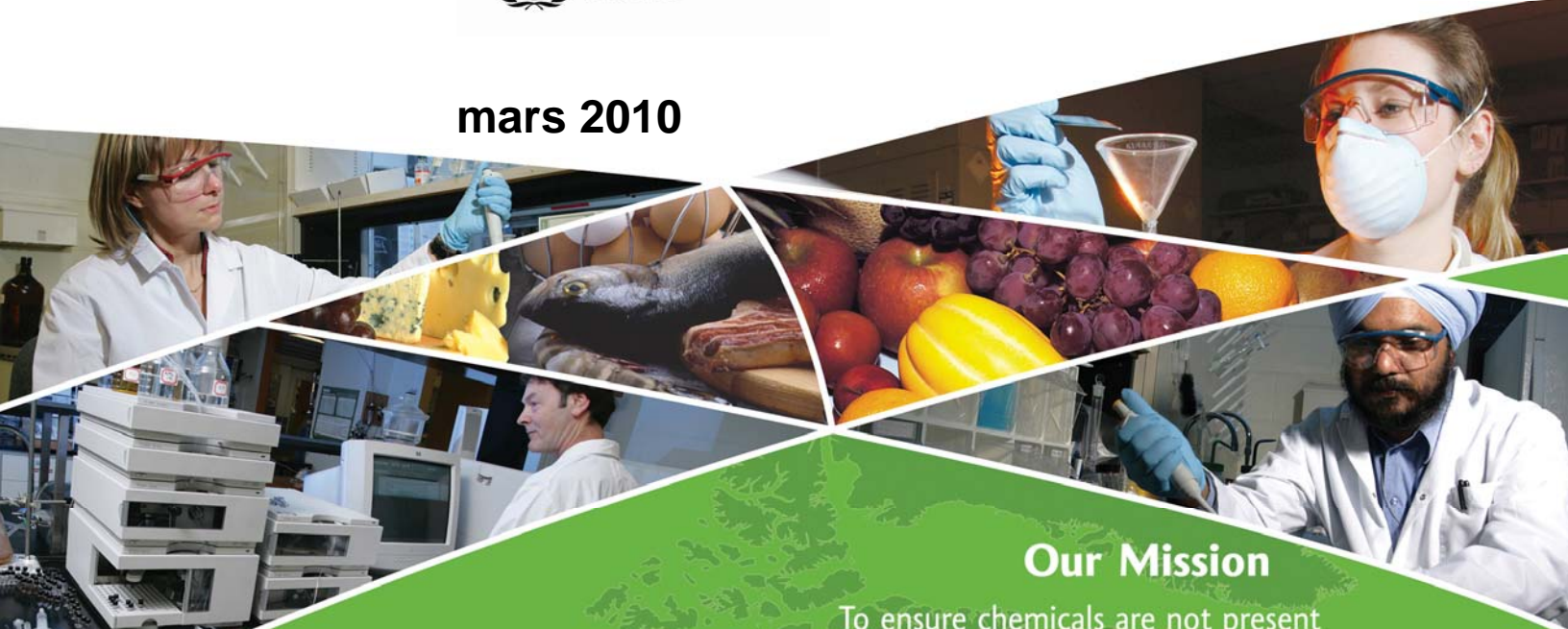
Trousse Elisa Systems pour la détection du sésame (ESSESRD-48) : évaluation de la performance

Centre de Collaboration de l'OMS
pour la surveillance de la contamination alimentaire



Organisation Mondiale
de la Santé

mars 2010



Notre Mission

Veiller à ce que les produits chimiques ne soient pas présents dans les aliments à des niveaux pouvant entraîner des effets néfastes sur la santé des canadiennes et des canadiens.

Our Mission

To ensure chemicals are not present in foods at levels that may cause adverse health effects to Canadians.

Canada

Trousse Elisa Systems pour la détection du sésame (ESSESRD-48) : évaluation de la performance

Avertissement : La publication de cette méthode dans le recueil ne sous-entend pas qu'elle est approuvée ou entérinée par Santé Canada.

Introduction

La présente étude a pour objet d'obtenir des données sur la performance de la trousse Elisa Systems pour la détection du sésame pour la détection et la quantification de la protéine (2S albumine) de la graine de sésame (*Sesamum indicum*). Elle constitue un volet des mesures soutenues visant à évaluer les méthodes de détection des allergènes dans les aliments et à les intégrer dans le *Recueil des méthodes*. Une pâte de sésame représentative a été choisie comme substance de référence conforme à la définition adoptée par le Comité des méthodes sur les allergènes (CMA). Cette évaluation comportait l'analyse de matrices alimentaires, lesquelles ont été fortifiées artificiellement (échantillons fortifiés) avec la pâte de sésame.

Méthode évaluée :

Trousse Elisa Systems pour la détection du sésame (code du produit : ESSESRD-48).

Portée de l'évaluation :

Évaluation complète conformément aux lignes directrices établies pour le *Recueil des méthodes d'analyse des allergènes alimentaires*.

Matériel de référence désigné :

Actuellement, il n'existe pas de matériel de référence pour la protéine de la graine de sésame. Par conséquent, il a été mis au point, puis corrélé avec les témoins positifs de la trousse d'analyse.

Laboratoires participants :

Laboratoire de recherche sur les allergènes alimentaires de Santé Canada
Immeuble Frederick G. Banting, Ottawa, ON

Laboratoire de la Région de l'Ouest, Santé Canada
Burnaby, C.-B.

Laboratoire régional du Québec, ACIA
Longueuil, Qc

Laboratoire régional de l'Ouest du Canada, ACIA
Burnaby, C.-B.

Niveaux de fortification :

Selon le recueil, les niveaux de fortification doivent produire une réponse de la trousse équivalente à environ 0,2 et 5 fois la limite de quantification (LQ). L'étendue de mesure pour la trousse Elisa Systems pour la détection du sésame est de 1,0 à 5,0 ppm, ce qui fait en sorte que les niveaux de fortification autres que zéro doivent être de 2 et de 5 ppm. Afin de maintenir les niveaux dans les limites de la courbe d'étalonnage, et ce, sans dilutions additionnelles, les niveaux de fortification ont été modifiés à 1,5 fois (1,5 ppm) et à 3,5 fois (3,5 ppm) la LQ lorsqu'ils ont été appliqués au matériel de référence du sésame.

Conditions de fortification :

Les graines de sésame ont été moulues finement sous l'azote liquide à l'aide d'un mortier et d'un pilon afin d'obtenir une poudre. Le matériel a été mis en suspension dans une solution de carboxyméthylcellulose (CMC), conformément à une méthode mise au point par Trucksess *et al.*, Preparation of Peanut Butter Suspension for Determination of Peanuts Using Enzyme-Linked Immunoassay Kits, publiée dans le *Journal of AOAC International*, vol. 87(2), 2004. Par la suite, on a eu recours à cette suspension de sésame en CMC pour fortifier différentes matrices à 1,5 et à 3,5 ppm. On a assigné un code sans identifiant aux échantillons, puis on les a expédiés aux laboratoires participants.

Matrices d'intérêt :

Trois matrices différentes ont été utilisées pour l'évaluation : de la chapelure, des craquelins cuits au four et une trempette pour les légumes. Ces produits ont été choisis, car ils sont représentatifs de certaines des matrices susceptibles de contenir des protéines de sésame dont la présence n'est pas déclarée.

Matériel et ressources :

Chaque laboratoire participant a reçu suffisamment de trousse Elisa Systems pour la détection du sésame (6) pour réaliser l'analyse des échantillons auxquels on a assigné un code sans identifiant (30 de chaque matrice et 4 échantillons exempts de matrice, soit 94 échantillons au total).

Méthode

Méthode de fortification :

Les niveaux de fortification ont été choisis de façon à obtenir un résultat d'environ 1,5 et 3,5 fois la LQ déterminée pour la trousse Elisa Systems pour la détection du sésame (1,0 ppm). Il n'existe pas de matériel de référence standard pour la protéine de sésame. Il a donc été nécessaire de produire une corrélation entre le matériel de graines de sésame constitué pour cette étude et les témoins positifs fournis avec la trousse Elisa. On a déterminé que de 20,0 à 80,0 ppm de la suspension de graines de sésame entières dans une solution de CMC préparée pour cette étude fournirait un résultat de 1,0 à 4,0 ppm avec les témoins de la trousse, ce qui représente de 12 à

48 ppm de graines de sésame entières utilisées par le fabricant de la trousse. La faible différence dans la corrélation entre les témoins de la trousse Elisa Systems et notre matériel de référence est vraisemblablement due à la différence de la teneur en protéines entre notre matériel et celui auquel on a eu recours pour mettre au point le dosage de la trousse Elisa Systems.

Une suspension mère de pâte de sésame dans le CMC à une concentration de 1 mg/g (1 000 ppm) a été préparée le jour de la fortification. Ce matériel a été dilué dans une solution tampon phosphate saline (PBS) pour obtenir les solutions de fortification de 1,5 ppm (7,5 ml dans 250 ml) et de 3,5 ppm (17,5 ml dans 250 ml). Afin d'obtenir la standardisation entre les échantillons de 5 g des trois matrices différentes, celles-ci ont toutes été fortifiées avec une aliquote de 1 ml de la solution de fortification adéquate dans des flacons de 250 ml de polypropylène. Les échantillons non fortifiés ont été fortifiés avec 1 ml d'une solution préparée en diluant une suspension de CMC avec du PBS.

Préparation des échantillons :

Les 360 échantillons requis (10 réplicats de chacun des 3 niveaux des 3 matrices pour 4 laboratoires) ont été préparés au Laboratoire de recherche sur les allergènes alimentaires de Santé Canada de Burnaby. Des échantillons de 5 g ont été pesés, puis déposés dans des flacons à bouchon vissé de 250 ml (120 échantillons par matrice). Les échantillons ont été répartis en groupes, puis fortifiés à l'un des trois niveaux. Un code sans identifiant a été attribué à chaque échantillon, puis les échantillons ont été regroupés pour chacun des quatre laboratoires participants et enfin expédiés par messagerie accompagnés des troussees requises.

Extraction et analyse des échantillons :

Chaque laboratoire a soumis les échantillons à une extraction et à l'analyse en suivant la méthode recommandée pour l'utilisation de la trousse Elisa Systems pour la détection du sésame. Les données brutes obtenues par chaque laboratoire ont été transmises au Laboratoire de recherche sur les allergènes alimentaires de Santé Canada, à Ottawa, afin qu'elles soient consolidées et soumises à une analyse statistique.

Résultats

Après la compilation des données, on a remarqué que plusieurs échantillons de craquelins et que certains échantillons de biscuits fortifiés du laboratoire n° 1 n'ont produit qu'un très faible taux de récupération, et ce, même au niveau de fortification le plus élevé. À la lecture des commentaires formulés par les laboratoires participants, on a découvert que les échantillons de craquelins et, dans une moindre mesure, les échantillons de biscuits, ont formé de grosses masses au contact du matériel de fortification, ce qui a exigé une homogénéisation complète pendant l'étape d'extraction. La difficulté survenue lors de l'homogénéisation de ces échantillons est vraisemblablement à la source du très faible taux de récupération obtenu par ce laboratoire. Ces données ont été écartées des étapes d'analyse suivantes. Les données restantes ont été analysées au moyen du test de Grubb pour repérer les résultats aberrants, à un intervalle de confiance de 95 %. Cinq résultats aberrants ont ainsi été écartés des étapes subséquentes de l'analyse.

Les résultats des 355 échantillons restants ont révélé une bonne concordance inter- et intralaboratoires. On n'a relevé aucun faux positif, et 9 des 210 échantillons fortifiés étaient inférieurs au témoin positif de 1,0 ppm, ce qui a produit un taux de 4,3 % de faux négatif. On doit souligner que tous les résultats faux négatifs provenaient du taux de fortification de 1,5 ppm et que la majorité de ceux-ci présentaient une densité optique juste au-dessous du seuil, ce qui est considérablement plus élevé que l'échantillon non fortifié. Étant donné l'étendue de mesure de 1,0 à 5,0 ppm, l'une des difficultés que comportait cette étude consistait à déterminer les niveaux de fortification. Dans les études antérieures, le premier niveau de fortification était de deux fois supérieur à la solution étalon la plus faible. Ces dispositions ont été prises pour tenir compte de la variabilité des mesures tout en maintenant le résultat au-dessus de la solution étalon la plus faible. Dans l'un des exemples de cette étude, le laboratoire n° 2 a fait état de quatre des neuf résultats faux négatifs, lesquels ont été observés pour les craquelins au niveau de fortification de 1,5 ppm. L'analyse des résultats de la plaque provenant de ce laboratoire a révélé que la densité optique pour le témoin positif à 1,0 ppm ($0,92 \pm 0,01$) était considérablement plus élevée que pour la référence zéro ($0,231 \pm 0,002$) et même que pour la moyenne des échantillons non fortifiés de craquelins ($0,25 \pm 0,07$, $n=8$). L'une des méthodes pour l'estimation de la LQ consiste à utiliser 10 fois l'écart-type pour les échantillons non fortifiés, ce qui produirait une LQ de 0,5 ppm pour cette plaque et aucun résultat faux négatif. Cet aspect a fait l'objet de discussions avec les représentants d'Elisa Systems, lesquels ont indiqué qu'ils ajouteront 0,5 ppm aux standards de calibration afin d'élargir la portée de l'analyse. Si une mesure à 0,5 ppm avait été possible dans le cadre de cette étude, aucun faux positif ni faux négatif n'aurait été obtenu.

Le taux de récupération déterminé à partir des valeurs moyennes obtenues est très uniforme entre les laboratoires et les différentes matrices. Si les niveaux de fortification théoriques sont utilisés dans les calculs, alors le taux de récupération varie de 73 à 93 % et de 69 à 80 % pour les niveaux de fortification de 1,5 ppm et de 3,5 ppm respectivement. Ces taux de récupération sont relativement bons et ils sont cohérents avec ceux des autres études recensées dans le recueil. Les taux de récupération les plus faibles ont été obtenus de la matrice de craquelins, laquelle formait des masses de matière, et celles-ci sont la cause la plus vraisemblable de ces faibles taux de récupération. La détérioration du matériel de fortification au fil du temps ou les interférences de la matrice dans l'analyse pourraient constituer d'autres causes des faibles taux de récupération. Pour tenter de déterminer si l'une ou l'autre de ces situations est survenue, des échantillons dénués de matrice ont été expédiés à tous les laboratoires pour y être analysés. Les niveaux déterminés pour ces échantillons étaient de $1,2 \pm 0,1$ ppm et de $3,0 \pm 0,6$ ppm pour les niveaux de fortification théoriques de 1,5 ppm et de 3,5 ppm respectivement. Il semble que la détérioration de la réponse du matériel de fortification ait été très légère au fil du temps, ce qui entraînerait un taux de récupération de 92 à 117 % et de 80 à 93 % pour les niveaux de fortification de 1,5 et de 3,5 ppm respectivement.

L'écart réduit constitue un indicateur de la concordance entre les laboratoires et de la performance d'un laboratoire donné par rapport aux autres. L'écart réduit est tout simplement une indication de l'importance et du sens de l'écart de la moyenne d'un laboratoire par rapport à la moyenne globale des autres laboratoires participant à l'étude. Par exemple, un écart réduit de 2,0 indique qu'un résultat se situait à deux écarts-types au-dessus de la moyenne et ce résultat est parfois utilisé à titre de seuil pour indiquer qu'un laboratoire a obtenu des résultats

statistiquement différents de ceux obtenus par les autres. L'écart réduit a été calculé pour chaque laboratoire, pour chaque produit et pour chaque niveau de fortification. Tous les écarts réduits se situaient entre -0,9 et 1,0, ce qui démontre une excellente concordance entre les laboratoires participants.

Un résumé des résultats pour chacun des laboratoires participants est présenté ici. **S'il vous plaît, voir les tables qui suit.**

Conclusion :

La trousse Elisa Systems pour la détection du sésame a donné des résultats satisfaisants avec les matrices et les degrés employés au cours de l'évaluation. Ce sont les échantillons de craquelin qui ont causé certaines difficultés à l'extraction, et ce, à cause de la formation de masses de matériel, mais une fois suffisamment homogénéisés, les résultats se sont révélés comparables à ceux obtenus avec les autres matrices. La chapelure et la trempette pour les légumes n'ont provoqué aucun problème d'extraction tout en produisant des résultats très semblables.

Résultats pour les craquelins

	Craquelins 0 ppm*			Craquelins 1,5 ppm			Craquelins 3,5 ppm		
	Portée	Moyenne	ÉT	Étendue	Moyenne	ÉT	Étendue	Moyenne	ÉT
Lab. 1	0,0-0,1	0,04	0,02	S. O.	S. O.	S. O.	S. O.	S. O.	S. O.
Lab. 2	0,0-0,0	0,01	0,01	1,0-1,2	1,1	0,1	1,6-2,6	2,2	0,3
Lab. 3	0,0-0,1	0,06	0,04	1,1-1,2	1,2	0,1	1,0-3,7	2,6	0,8
Lab. 4	0,0-0,1	0,04	0,03	1,0-1,3	1,1	0,1	1,6-3,1	2,3	0,4

*Les niveaux correspondent aux standards de calibration de la trousse; ils ont été normalisés par rapport au matériel de référence pour cette étude.

Résultats pour la chapelure

	Chapelure 0 ppm**			Chapelure 1,5 ppm			Chapelure 3,5 ppm		
	Étendue	Moyenne	ÉT	Étendue	Moyenne	ÉT	Étendue	Moyenne	ÉT
Lab. 1	0,0-0,1	0,07	0,04	1,0-1,3	1,2	0,1	1,3-3,2	2,3	0,6
Lab. 2	0,0-0,1	0,05	0,01	1,2-1,5	1,4	0,1	2,7-4,0	3,3	0,5
Lab. 3	0,0-0,1	0,05	0,04	1,0-2,0	1,4	0,4	2,1-3,9	3,0	0,6
Lab. 4	0,0-0,2	0,09	0,04	1,2-1,5	1,4	0,1	2,2-3,2	2,8	0,3

*Les niveaux correspondent aux standards de calibration de la trousse; ils ont été normalisés par rapport au matériel de référence pour cette étude.

Résultats pour la trempette pour les légumes

	Trempette 0 ppm*			Trempette 1,5 ppm*			Trempette 3,5 ppm*		
	Étendue	Moyenne	ÉT	Étendue	Moyenne	ÉT	Étendue	Moyenne	ÉT
Lab. 1	0,0-0,1	0,04	0,02	1,0-1,4	1,2	0,1	2,3-3,0	2,8	0,3
Lab. 2	0,0-0,1	0,05	0,02	1,0-1,2	1,1	0,1	2,3-2,9	2,6	0,2
Lab. 3	0,0-0,1	0,06	0,04	1,0-1,4	1,2	0,2	2,1-3,3	2,8	0,4
Lab. 4	0,0-0,2	0,10	0,04	1,0-1,4	1,1	0,1	2,3-3,3	2,7	0,4

*Les niveaux correspondent aux standards de calibration de la trousse; ils ont été normalisés par rapport au matériel de référence pour cette étude.

Écarts réduits pour les laboratoires participants*

	Craquelins			Chapelure			Trempette		
	0,04 ppm	1,14 ppm	2,36 ppm	0,06 ppm	1,35 ppm	2,84 ppm	0,06 ppm	1,14 ppm	2,72 ppm
Lab. 1	0,0	S. O.	S. O.	0,1	-0,8	-0,9	-0,6	0,1	0,1
Lab. 2	-0,9	-0,6	-0,3	-0,4	0,1	0,8	-0,3	-0,2	-0,4
Lab. 3	0,7	0,6	0,4	-0,4	0,3	0,2	-0,1	0,7	0,2
Lab. 4	0,1	-0,2	-0,1	0,7	0,2	0,0	1,0	-0,1	0,0

*Les écarts réduits sont fondés sur le niveau de protéine de sésame réel déterminé plutôt que sur le niveau de fortification théorique.