



# SOMMAIRE

Points Critiques

<b>AVANT-PROPOS.....</b>	<b>3</b>	
<b>1. PRECONISATIONS GENERALES.....</b>	<b>4</b>	<b>PC 1</b>
<b>2. PRINCIPE DES KITS ELISA .....</b>	<b>4</b>	
<b>3. DOMAINE D'APPLICATION.....</b>	<b>4</b>	<b>PC 2</b>
<b>4. PREPARATION DES ECHANTILLONS.....</b>	<b>4</b>	<b>PC 3</b>
<b>5. MISE EN ŒUVRE DES KITS .....</b>	<b>5</b>	
<b>5.1 APPAREILLAGE ET VERRERIE.....</b>	<b>5</b>	<b>PC 4-5</b>
<b>5.2 REACTIFS ET COMPOSANTS DES KITS .....</b>	<b>6</b>	<b>PC 6-7-8</b>
<b>5.3 REALISATION D'UNE ANALYSE .....</b>	<b>7</b>	
5.3.1 Extraction.....	7	<b>PC 9</b>
5.3.2 Prélèvement et répartition des réactifs et des échantillons .....	7	<b>PC 10-11-12</b>
5.3.3 Incubation – Lavage des microplaques et Révélation .....	8	
<b>5.4 LECTURE ET VALIDATION.....</b>	<b>9</b>	<b>PC 13-14-15</b>
5.4.1 Lecture .....	9	<b>PC 16</b>
5.4.2 Validation : acceptabilité de la gamme étalon .....	9	
<b>5.5 CALCUL ET EXPRESSION DES RESULTATS .....</b>	<b>10</b>	
5.5.1 Calculs des résultats.....	10	
5.5.2 Expression des résultats .....	10	
<b>5.6 ACCEPTABILITE DE LA MESURE .....</b>	<b>10</b>	
5.6.1 Limite de répétabilité.....	10	
5.6.2 Limite de reproductibilité .....	11	
<b>5.7 SYSTEME D'AUTOCONTROLE .....</b>	<b>11</b>	
<b>6. REMARQUES IMPORTANTES .....</b>	<b>12</b>	
6.1 SENSIBILITE.....	12	
6.2 EFFET MATRICE.....	12	
6.3 SPECIFICITE.....	12	
<b>ANNEXE I : PRINCIPE DES KITS ELISA.....</b>	<b>13</b>	
<b>ANNEXE II : CALCULS DES RESULTATS.....</b>	<b>21</b>	
<b>ANNEXE III : KITS DISPONIBLES.....</b>	<b>24</b>	

# REMERCIEMENTS

L'écriture de ce guide a été menée de manière collégiale, en associant :

- les apports techniques des fournisseurs de kits,
- le savoir-faire pratique de terrain des opérateurs des filières céréalières.

Nous tenons particulièrement à remercier, pour leur participation à l'écriture et à la relecture de la première version de ce guide :

- **Marc BARRET**, Neogen
- **Marcel BONY**, R-Biopharm
- **Brigitte CAMELI**, Panzani
- **Christelle FLORIN**, Syngenta Seeds
- **Frédéric HOMMET**, CTCPA
- **Marie LESCOP**, Nutrixo – GMP
- **Boutros KERBAJE**, R-Biopharm
- **Graziella RIGAL**, ONIGC
- **Marie-François SAMSON**, ENSAM-INRA Montpellier
- **Christian TENIER**, Romer
- **Anne LOEUILLET**, Biotrace

Coordination : **Guislaine VERON-DELOR**, Institut de Recherches Technologiques Agro-Alimentaires des Céréales (IRTAC), et

**Jean-Michel RAIMBAULT**, ARVALIS - Institut du Végétal

Pour la présente version :

Ont participé à la mise à jour :

- **Laure ESPINASSE**, FranceAgriMer
- **Maxime FRANCOIS**, Champagne Céréales
- **Marie LESCOP**, Nutrixo – GMP
- **Brigitte MAHAUT**, ARVALIS - Institut du Végétal
- **Graziella RIGAL**, FranceAgriMer

Coordination : **Ludovic CHANUT**, Institut de Recherches Technologiques Agro-Alimentaires des Céréales (IRTAC)

## AVERTISSEMENT

L'objectif de ce guide est d'apporter aux utilisateurs de kits immunoenzymatiques, pour l'évaluation des teneurs en mycotoxines, les éléments essentiels leur permettant d'obtenir, autant que possible, des résultats fiables et reproductibles.

Il est en effet **nécessaire de respecter certaines précautions** dans la mise en œuvre des kits, **sous peine d'avoir des résultats totalement incohérents.**

**Ce guide ne constitue en aucune manière une validation de la justesse des résultats apportés par les différents kits immunoenzymatiques.**

**Cette responsabilité incombe aux fournisseurs de ces kits.**

## Avant-propos

Les kits ELISA, disponibles auprès de plusieurs fournisseurs, permettent d'obtenir des résultats qualitatifs, semi quantitatifs ou quantitatifs.

Ces techniques dites "rapides", en référence au temps nécessaire aux analyses chromatographiques classiques, ne permettent pas aujourd'hui d'effectuer des contrôles à réception car le temps nécessaire pour obtenir un résultat est **au minimum de 45 minutes**.

Néanmoins, ils sont très utiles dans le screening de lots (allotements, contrôle au stockage, expéditions...), moyennant quelques précautions dans la mise en œuvre.

**L'objectif de ce guide est d'apporter aux utilisateurs de kits immunoenzymatiques, pour l'évaluation des teneurs en mycotoxines, les éléments essentiels leur permettant d'obtenir des résultats fiables et reproductibles.**

**Il est en effet nécessaire de respecter certaines précautions dans la mise en œuvre des kits, sous peine d'avoir des résultats totalement incohérents. Toutes les précautions ne sont pas signalées dans les notices d'utilisation fournies avec les kits, c'est pourquoi il nous a semblé nécessaire d'écrire ce guide.**

**Ces techniques peuvent sous-estimer ou surestimer les teneurs en mycotoxines par rapport à une analyse par chromatographie. .**

**Ainsi l'obtention possible de "faux positifs" (estimation d'une teneur supérieure aux limites réglementaires alors que l'échantillon a une teneur réelle inférieure) ou inversement de "faux négatifs" doit faire prendre conscience à l'utilisateur des limites de cet outil.**

**La capacité de prédiction varie selon le fabricant et le type de mycotoxines.**

Il est **souhaitable**, notamment pour les raisons évoquées ci-dessus, de confirmer tout résultat **supérieur aux seuils recommandés ou réglementés** par une analyse chromatographique de référence.

Le tableau ci-dessous rassemble les différentes informations à avoir à l'esprit avant toute mise en œuvre de kits ELISA.

Avantages	Désavantages
Rapidité des résultats Coût en investissement matériel faible Simple d'utilisation pour du personnel qualifié avec entraînement Dosages de plusieurs échantillons simultanés Coût analytique réduit / méthodes de référence Fournisseurs disponibles pour une formation sur site de type « clé en main »	Précision inférieure aux techniques de référence de laboratoire Le dépassement des limites réglementaires exige une confirmation par méthode officielle Un environnement de laboratoire est nécessaire Un kit entamé doit être utilisé rapidement Élimination des déchets et résidus

Enfin, même si ce point n'est pas abordé dans le guide, il est essentiel que l'échantillon soumis à analyse soit représentatif du lot dont on veut estimer la concentration moyenne en mycotoxines. Une attention particulière devra être ainsi accordée à l'échantillonnage, au même titre que pour les méthodes de référence puisqu'un mauvais échantillonnage entraînera un résultat analytique ne correspondant pas à la réalité.

## 1. Préconisations générales

Veiller à ce que l'acheminement du ou des kits demandés se fassent dans des délais les plus courts possibles : maximum 48 heures.

Les kits sont à conserver à température positive entre +2 et +8 °C.

Il est impératif que l'utilisation des kits ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) soit confié à du personnel qualifié et minutieux. Une formation initiale à l'utilisation des kits doit être exigée par l'utilisateur auprès des fournisseurs de kits. Toute production de résultats analytiques fiables ne pourra se faire qu'après cette étape de formation.

**Les consignes suivantes** sont à respecter :

- porter des gants et des lunettes lors des manipulations,
- travailler sous sorbonne pour les extractions avec solvants dangereux,
- se reporter aux phrases Risque & Sécurité des produits et des réactifs,
- lire les fiches sécurité produit pour les mycotoxines utilisées lors de la manipulation des solutions étalons,
- la vaisselle utilisée doit être décontaminée. Par exemple, la mettre à tremper environ 2 heures dans une solution d'hypochlorite de sodium (diluer un berlingot d'eau de javel dans 10 litres d'eau environ), puis ½ heure dans la même solution contenant 5% d'acétone puis rinçage à l'eau.
- travailler dans un environnement non poussiéreux.

**Point critique**  
**1**  
**Les consignes**  
**de sécurité**

## 2. Principe des kits ELISA

Les kits ELISA reposent sur le principe d'une réaction entre antigène (molécule à doser) et anticorps pour former un complexe antigène – anticorps (Annexe I). Les tests ELISA sont de type :

- "sandwich" : la couleur développée est proportionnelle à la quantité de molécules à détecter présente dans l'échantillon
- "compétition" directe ou indirecte : la couleur développée est inversement proportionnelle à la quantité de molécules à détecter présente dans l'échantillon

Ces dosages peuvent être :

- Quantitatifs
- Semi quantitatifs
- Qualitatifs

## 3. Domaine d'application

Pour chaque kit, le domaine d'application est spécifique. Il correspond aux matrices pour lesquelles il a été validé par le fournisseur : céréales, graines oléagineuses, produits transformés (bière, pétales de maïs, aliments pour animaux,...). Se reporter impérativement à la notice d'emploi et/ou contacter les services techniques concernés.

**Point critique**  
**2**  
**Domaine**  
**d'application**

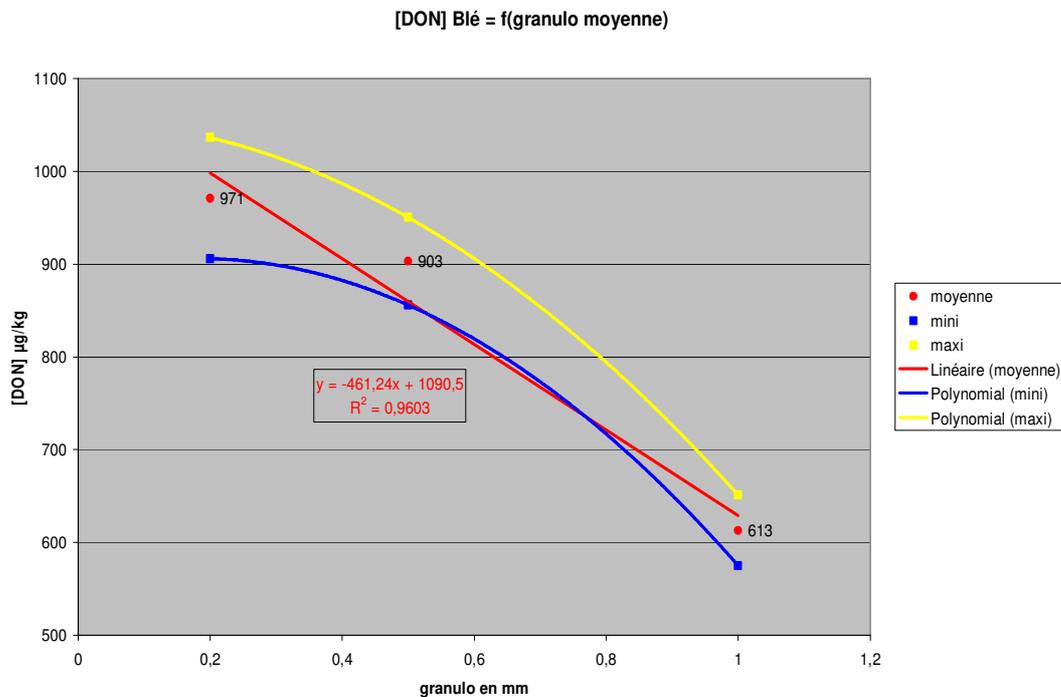
## 4. Préparation des échantillons

Elle a pour but d'extraire les mycotoxines dans une phase liquide afin de les analyser. Pour les produits solides, la préparation commence par un broyage de l'échantillon afin de le réduire en poudre.

La granulométrie du broyat a une influence sur le résultat analytique, comme le montre la courbe ci-dessous : plus la granulométrie est fine, meilleure est l'extraction.

Dans les méthodes de référence, il est préconisé un broyage à 0,5 mm.

(90 % du produit doit passer au travers d'une grille d'ouverture de maille de 0,5 mm)



Point critique  
3  
Granulométrie

Pour réaliser les broyages, choisir un matériel dont l'ensemble des éléments est facilement accessible car il est nécessaire de s'assurer du bon nettoyage de l'appareil entre 2 échantillons afin d'éviter les contaminations croisées.

## 5. Mise en œuvre des kits

Le mode opératoire utilisé doit être conforme aux préconisations du mode d'emploi du fournisseur, sauf si le laboratoire dispose d'une étude documentée permettant d'apprécier l'incidence de la modification sur le résultat final.

### 5.1 Appareillage et verrerie

Le laboratoire doit disposer des appareillages, matériels, et de la verrerie correspondant aux exigences de la technique ELISA.

#### ☞ Instruments volumétriques :

**Pour les nouveaux utilisateurs il est préférable de s'entraîner avec de l'eau distillée et une balance de précision pour vérifier son pipetage.**

**Les données (justesse et fidélité)** des instruments volumétriques sont vérifiées périodiquement, en fonction de leur fréquence d'utilisation et des résultats des vérifications métrologiques.

Point critique  
4  
Métrologie  
des appareils

Si des pipettes multicanaux sont utilisées, il est nécessaire de vérifier avec attention que le volume délivré par chaque cône est identique (la métrologie de ce type de pipettes est très délicate), sous peine de fausser les résultats.

Si des pipettes monocanal sont utilisées, il est nécessaire de s'assurer que le temps nécessaire pour remplir les puits à chaque étape est identique.

Si ce temps n'est pas bien maîtrisé, mieux vaut alors utiliser une multipipette ou une pipette multicanaux.

### ☛ Lecteur de plaques

Nettoyage des filtres : un nettoyage du ou des filtres utilisés doit être effectué en fonction de la charge de poussière du local.

Sur certains appareils, l'accès est facilité par une trappe avec vis.

Cette maintenance préventive doit être réalisée au minimum tous les ans et peut être effectuée par une société spécialisée.

Contrôle de la linéarité des lecteurs de plaque : un contrôle à la longueur d'onde d'intérêt est préconisé 1 fois par an au minimum.

Des solutions existent, par exemple :

- Utilisation d'une barrette de contrôle certifiée par le COFRAC (valable approximativement trois ans) permettant la vérification technique du lecteur. Le nombre de contrôles pendant cette période est illimité (voir avec le fournisseur concerné).

- Utilisation d'une boîte de 6 barrettes permettant de réaliser 6 contrôles à une longueur d'onde de 450 nm (longueur utilisée pour la lecture des kits Don en général). Chaque barrette est à reconstituer et est à usage unique (voir avec le fournisseur concerné).

### ☛ Risque lié à la verrerie :

Pour certaines mycotoxines (ochratoxine, aflatoxines, fumonisines), il est nécessaire d'utiliser des tubes en verre ou en polypropylène à la place des tubes en polyéthylène car les molécules que l'on cherche à doser se fixent sur ce support.

Point critique 5  
Contenant

## 5.2 Réactifs et composants des kits

**La date de validité des kits** doit être contrôlée avant toute mise en œuvre.

De même, du fait de la conception des kits immunoenzymatiques, des variations entre lots peuvent être constatées. Dans le cas d'évaluation de séries d'échantillons, il est recommandé de tenir compte des numéros de lot des kits utilisés.

La température de stockage des kits (+2 à +8 °C) doit être contrôlée quotidiennement.

Dans les coffrets, les réactifs sont prêts à l'emploi et doivent être utilisés selon les instructions du fournisseur.

Les points suivants sont particulièrement importants :

- L'eau utilisée est de l'eau de qualité 3 ou supérieure comme définie dans la norme NF EN ISO 3696 (Eau pour laboratoire à usage analytique. Spécification et méthodes d'essai).

Point critique 6  
Eau

Pour certains kits, le lavage se fait à l'eau désionisée ou à l'eau distillée.

**Les anticorps sont plus ou moins sensibles au pH, il est recommandé d'ajuster le pH de la solution de lavage ou d'utiliser un tampon PBS.**

Point critique 7  
pH

- Au cours de la durée de vie du kit, les densités optiques diminuent.

- Précautions avant mise en œuvre du kit :

- Sortir le nombre suffisant de barrettes (pas plus de 3 barrettes) ainsi que le cadre et les réactifs.
- Remettre les autres barrettes et les quantités de réactifs non utilisées dans leur emballage à une température de +2 à +8 °C.
- **Laisser revenir l'ensemble du matériel utilisé à température ambiante au moins 1 heure avant utilisation (1h30 pour un kit fumonisines).**
- Ne pas exposer les réactifs directement à la lumière (notamment dans le cadre de reconditionnements).

Point critique 8  
T ° C des réactifs à l'utilisation

- Lors du transfert des réactifs dans un autre contenant, prendre en compte le matériau de ce contenant afin d'éviter des biais.
- Avant l'utilisation du kit, vérifier que les réactifs n'ont pas précipité.
- Un kit entamé doit être consommé rapidement car des contaminations peuvent se produire. Le délai maximum d'utilisation d'un kit entamé est de 1 à 3 mois selon les fournisseurs.
- En cas d'utilisation d'un tampon : conserver le tampon 4 semaines maximum **entre +2 à +8°C**. Le ramener à température ambiante avant utilisation.

### 5.3 Réalisation d'une analyse

Des précautions doivent être prises pour les dosages de certaines mycotoxines qui sont sensibles à la lumière (exemple : aflatoxines).

Il est conseillé d'intégrer un matériau de référence dans les séries d'analyses (voir paragraphe 5.6). Il doit être traité de la même façon que les autres échantillons

#### 5.3.1 Extraction

Réaliser l'extraction suivant les instructions du fournisseur. Une prise d'essai différente (mais non réduite) peut être pratiquée à condition de respecter les proportions avec les réactifs d'extraction et de préciser sur le rapport d'analyse la prise d'essai utilisée.

**La prise d'essai doit être la plus représentative possible de l'échantillon : une quantité de broyat de 20 g minimum est conseillée** (voir paragraphe 4 sur la qualité du broyat).

Les temps et mode d'agitation ont une incidence sur la qualité de l'extraction des mycotoxines et par conséquent sur la teneur finale. Respecter les préconisations du fournisseur ou valider ces paramètres par des essais conduits avec des matériaux de référence.

Le pH de l'extrait brut ou dilué doit être ajusté dans un intervalle souvent compris entre 6 et 8 unités pH avant d'être déposé.

**Sur certains échantillons de pH < 6 (notamment maïs ou malt d'orge), le non respect de cet ajustement, lorsqu'il est demandé par le fournisseur, entraîne des variations importantes de résultats.**

L'ajustement du pH peut éventuellement se faire à l'aide d'une solution de soude (10 µL dans 5 mL de filtrat).

Point critique  
**9**  
Temps et mode  
d'agitation, pH

S'assurer de l'absence de particules dans le filtrat (endommagement du filtre).

#### 5.3.2 Prélèvement et répartition des réactifs et des échantillons

L'utilisation de consommables (cônes de préleveurs, cônes de pipettes) se fait en respectant strictement les indications du fournisseur.

Le système choisi pour le prélèvement et la répartition des échantillons doit permettre de garantir l'absence de contamination entre échantillons.

Le laboratoire doit utiliser des systèmes de répartition différents (bacs, seringues, cassettes, cônes de pipettes ...) pour chaque réactif du kit (anticorps secondaire, substrat, solution stop...).

Lors de l'utilisation de systèmes automatiques ou semi-automatiques de répartition, ces prescriptions peuvent ne pas être respectées. Il est nécessaire de veiller à ce qu'aucune contamination entre différents produits ne puisse se produire.

Changer d'embouts autant de fois qu'il est nécessaire.

Vérifier la qualité de la répartition des réactifs dans les microplaques ELISA par contrôle visuel.

Point critique  
**10**  
Contamination  
inter-  
échantillon

Les précautions suivantes doivent être suivies :

- Avant utilisation, agiter pendant quelques secondes tous les réactifs.
- Eviter la formation de bulles dans les puits.
- Ne pas toucher les puits avec les embouts lors du dépôt.

Point critique  
11  
Respect  
scrupuleux des  
temps de  
réaction

Le temps de répartition des échantillons sur une microplaque ne doit pas aboutir au non-respect des durées d'incubation.

Pour ¼ de plaque (plaque de 96 puits) ou ½ plaque (plaque de 48 puits) selon les fournisseurs, soit 24 puits (nombre maximum de puits recommandé par test), il faut compter 20 à 30 secondes pour le dépôt des solutions de conjugué, d'anti-anticorps, de substrat et de solution stop.

Déclencher le chronomètre à la fin du transfert dans les puits de réaction pour la méthode "compétition directe" et à la fin de l'ajout de l'anti-anticorps pour la méthode de "compétition indirecte".

Mélanger délicatement en effectuant un mouvement circulaire pendant 20 à 30 s. Certains kits ne doivent pas être agités (se reporter à la notice du fournisseur).

On peut aussi mélanger le contenu des puits avant de déclencher le chronomètre à condition de rester homogène dans la réalisation de la suite du test.

Point critique  
12  
Respect  
scrupuleux des  
démarrages de  
chrono

### 5.3.3 Incubation – Lavage des microplaques et Révélation

#### ☞ **Environnement**

Incuber à température ambiante.

Eviter la lumière directe pendant les étapes d'incubation **et pour certains kits incuber obligatoirement à l'obscurité** (aflatoxines, fumonisines).

Il est conseillé de recouvrir la plaque d'un parafilm ou d'un couvercle afin d'éviter le dessèchement.

Respecter les temps d'incubation prescrits dans le mode opératoire

Ne pas laisser sécher les puits entre chaque étape d'incubation. Les différentes étapes doivent être réalisées en suivant.

Afin de ne pas interférer sur les temps d'incubation il ne faut pas utiliser plus de 3 barrettes de 8 puits en une seule fois (ou 2 de 12).

Point critique  
13  
Incubation à  
l'obscurité

#### ☞ **En cas d'utilisation d'un laveur de microplaques**

- les circuits doivent être rincés en début et en fin d'utilisation ;
- l'entretien des têtes de lavages au repos doit être fait suivant la recommandation du fournisseur complétée éventuellement par des dispositions internes.

#### ☞ **Paramètres pouvant influencer le lavage**

Les lavages doivent être effectués soigneusement en suivant le schéma de dépôt.

La plaque doit être tapée vigoureusement afin de bien vider les puits entre chaque rinçage et à la fin.

Point critique  
14  
Lavage

Pour ce faire on peut utiliser :

- Une multipipette (250µl).
- Une pipette multicanaux (dans ce cas, mieux vaut faire un lavage supplémentaire).
- Une pissette (attention à l'effet Kärcher).

Répéter l'opération au moins 3 à 5 fois suivant le protocole (mieux vaut laver plus, un lavage insuffisant peut entraîner une surestimation de la mycotoxine).

En fin de lavage, taper fermement la plaque sur du papier absorbant pour éliminer toute trace de liquide.

### **Le dessous des puits doit être bien séché et essuyé.**

Ne jamais laisser les puits à sec entre deux étapes et en cas d'interruption imprévue, les remplir de tampon de lavage.

Enchaîner l'étape suivante assez rapidement (dans les 5 minutes).

#### **☞ Révélation**

Le substrat est sensible à la lumière et il faut éviter toute exposition directe à la lumière.

Déclencher le chronomètre dès l'ajout du substrat dans le 1<sup>er</sup> puits.

Le remplissage des puits doit se faire assez rapidement (20 s à 30 s).

Agiter en effectuant un mouvement circulaire doux. Certains kits ne doivent pas être agités (se reporter à la notice du fournisseur).

On peut aussi déclencher le chronomètre à la fin du dépôt à condition d'être régulier dans la réalisation des kits.

Couvrir la plaque de microtitration d'un microfilm ou d'un carton et laisser incuber à température ambiante et à l'obscurité en respectant les temps préconisés par le fournisseur.

Respecter **les temps** et l'ordre de distribution de la solution stop en fonction de la distribution du substrat. (20 s à 30 s).

Eviter la formation de bulles dans les puits.

Si le lecteur est équipé d'un agitateur, agiter quelques secondes. Sinon agiter en effectuant un mouvement circulaire à la main sur la paillasse pendant au moins 30 s. (Se référer à la notice du fournisseur)

Attention à la formation de bulles : si celles-ci sont présentes, les faire disparaître à l'aide de cônes propres, car elles perturbent la lecture.

Effectuer rapidement les lectures des densités optiques (D.O).

**Point critique**  
**15**  
**Respect**  
**scrupuleux**  
**des**  
**démarrages**  
**de chrono**

## **5.4 Lecture et validation**

### **5.4.1 Lecture**

La lecture des microplaques ELISA se fait obligatoirement à l'aide d'un lecteur adapté (voir contrôle du lecteur de plaques 5.1) et du logiciel adéquat (de même marque) pour les tests quantitatifs. Les logiciels de calcul devront être fournis en même temps que les kits. (voir Annexe II).

### **5.4.2 Validation : acceptabilité de la gamme étalon**

Chaque microplaque met en œuvre une gamme étalon qui doit être validée selon les critères définis par le fournisseur.

La droite de calibration est obtenue par la gamme étalon dont le nombre de points doit comporter au moins 5 niveaux. Il est important de ne pas éliminer de points puisque les critères de validation du kit vont être établis sur cette base.

Il est conseillé de valider le maximum de points suivants :

#### **① Le coefficient de corrélation doit être supérieur ou égal à 0,98**

Le coefficient de corrélation permet d'établir la relation entre deux variables. Un coefficient de corrélation inférieur à 0,98 traduit une trop grande dispersion des points de la gamme : la gamme étalon ne pourra pas être validée et les résultats ne pourront pas être exploités.

Mais ce critère seul ne suffit pas à valider la gamme étalon.

**Point critique**  
**16**  
**Validation**  
**des résultats**

**② La valeur calculée des étalons doit avoir une déviation inférieure à 15 % par rapport à la valeur théorique**

Il s'agit de calculer la différence entre la valeur théorique de chaque étalon et sa valeur obtenue par la droite de calibration.

Cette vérification permet de ne pas établir une droite calculée à partir de points trop dispersés.

Le coefficient de corrélation est dans la plupart des cas supérieur à 0,98 alors que la déviation peut être  $\geq 15\%$ .

**③ La valeur du 50 % d'inhibition\* doit se trouver à +/- 25 % de la valeur théorique. Il est à noter que la DO évolue dans la durée de vie du kit.**

L'important ici est d'avoir un critère qui permet de savoir si la droite est centrée ou décalée par rapport au certificat fourni avec le kit.

*(\*50 % d'inhibition : quantité de toxine nécessaire pour diviser par 2 la DO de l'étalon 0.)*

**④ Valeur de B/Bo** (dans la mesure ou il est donné par le fournisseur)

Le rapport des densités optiques (DO du standard / DO de l'étalon 0) permet de s'affranchir des biais de vieillissement du kit et de manipulations.

Ce rapport doit avoir une déviation  $< 15\%$  par rapport à la valeur calculée. (Voir annexe II).

### 5.4.3 Calculs des résultats

Avec certains tests, il est nécessaire d'appliquer un facteur de dilution variable selon l'échantillon pour connaître la concentration en mycotoxine.

Dans d'autres cas, il n'est pas nécessaire d'appliquer un facteur de dilution, les valeurs mentionnées sur les standards tiennent compte de la dilution réalisée lors de la préparation de l'échantillon.

Suivant le degré de contamination et la matrice, on peut également être amené à diluer l'extrait pour avoir un signal compris entre 20 et 80 % d'activité, dans ce cas là il faudra tenir compte de cette dilution supplémentaire et multiplier le résultat par ce dernier facteur.

Sachant que la technique analytique repose sur la loi de Beer-Lambert, et que cette loi n'est linéaire que dans un domaine d'application restreint, il est vivement conseillé de veiller à ce que les densités optiques des standards et des échantillons se situent dans le domaine de linéarité de l'appareil.

### 5.4.4 Expression des résultats

Bien s'assurer de l'unité (mg/kg=ppm ou  $\mu\text{g}/\text{kg}=\text{ppb}$ ) dans laquelle est exprimée la gamme étalon.

Les résultats en dessous du premier point de gamme sont notés inférieurs à ... (ex :  $< 1 \mu\text{g}/\text{kg}$  pour certains kits en aflatoxines).

Les résultats au dessus du dernier point de gamme sont notés supérieurs à... ( $> 6\,000 \mu\text{g}/\text{kg}$  pour le DON) ou à défaut repris en analyse avec une étape de dilution avant dépôt.

## 5.5 Acceptabilité de la mesure

### 5.5.1 Limite de répétabilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels indépendants, obtenus avec la même méthode, par le même opérateur utilisant le même appareillage dans le même intervalle de temps, sur 2 prises d'essai d'un même échantillon, ne dépasse pas 20 %.

### 5.5.2 Limite de reproductibilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels indépendants, obtenus avec la même méthode sur 2 prises d'essai d'un même échantillon soumis à des conditions autres que celles de répétabilité, ne dépasse pas 30 %.

Le laboratoire peut établir ses propres limites sur son domaine d'application en s'appuyant sur un essai mené selon la norme ISO 5725.

### 5.6 Système d'autocontrôle

Il est conseillé d'introduire systématiquement à chaque plaque un échantillon de référence\* afin d'établir un témoin positif.

Des matériaux de référence certifiés ou externes peuvent être obtenus auprès de différents organismes comme l'IRMM, le FAPAS ou le BIPEA.

Des matériaux de référence internes, caractérisés par méthode chromatographique, peuvent être également utilisés.

Cet échantillon de référence permettra de valider ou d'invalider la série d'analyses en fonction de limites préétablies.

*\*Matériau de référence (selon FD V03-115) :*

*Matériau de référence certifié (MRC) : matériau de référence accompagné d'un certificat délivré par un organisme reconnu indiquant une (ou plusieurs) valeur(s) de la propriété et de son incertitude.*

*Matériau de référence externe (MRE) : matériau de référence dont la (les) valeur(s) de consensus a (ont) été déterminée(s) à la suite d'études inter-laboratoires.*

*Matériau de référence interne (MRI) : matériau de référence dont la valeur de référence est attribuée par l'utilisateur : par comparaison aux valeurs certifiées ou valeurs de consensus des matériaux de référence, ou par l'ajout d'une quantité connue de l'analyte à la matrice exempte de cet analyte.*

## **6. Remarques importantes**

### **6.1 Sensibilité**

Les limites de détection et de quantification pour les différents tests sont données par le fabricant.

Il est conseillé d'utiliser le premier point de gamme comme limite de quantification pour le kit.

### **6.2 Effet matrice**

Une matrice se définit par la nature de l'échantillon en lui-même : blé tendre, maïs, etc. Un effet matrice se traduit par la réponse différente d'une même analyse sur des échantillons de natures différentes en raison de l'influence de l'environnement chimique dans lequel se trouve la molécule à doser dans le produit.

Par exemple, un kit ELISA peut surévaluer une teneur pour une mycotoxine sur blé tendre et sous-évaluer la teneur de cette même mycotoxine sur maïs par rapport à la méthode de référence.

En cas d'utilisation d'un même type de kit ELISA pour estimer le niveau de contamination de matrices différentes, il est conseillé de s'assurer au préalable de la bonne réponse du kit pour chaque matrice évaluée.

### **6.3 Spécificité**

Contrairement aux méthodes chromatographiques, les kits Elisa ne sont pas spécifiques.

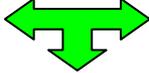
Ceci est dû en partie aux réactions croisées : les molécules chimiquement proches de la mycotoxine recherchée peuvent être dosées en même temps que cette dernière. Elles sont à l'origine de la surestimation des résultats donnés par un kit.

Le pourcentage des réactions croisées entre les différentes mycotoxines d'une même famille est généralement donné par les fiches des fournisseurs.

Ces pourcentages varient en fonction de la marque du kit.

# Annexe I : Principe des kits ELISA

## Principe :

Intéactions entre anticorps spécifique  Antigène (molécule à doser)

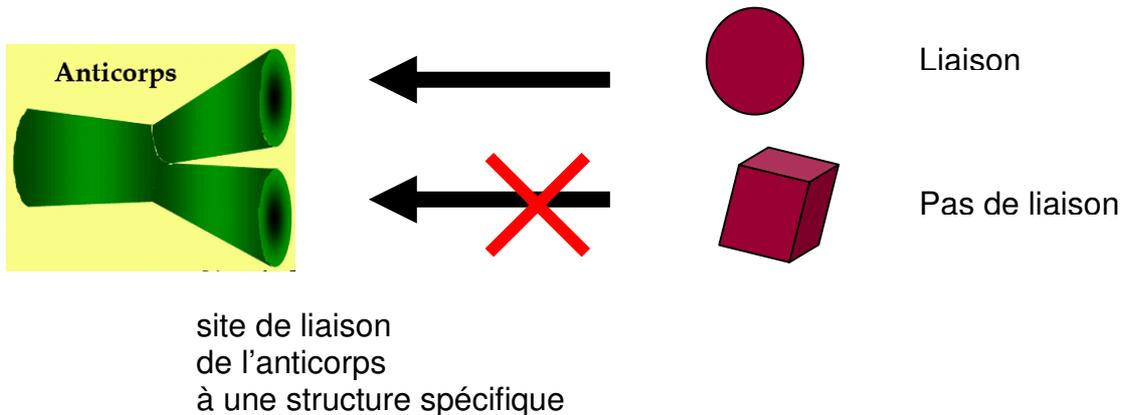
Complexe Ag / Ac

Révélation du complexe Ag / Ac :

- technique de précipitation
- marquage :
  - o enzymes (colorimétrie)
  - o radio-isotopes
  - o fluorescence,...

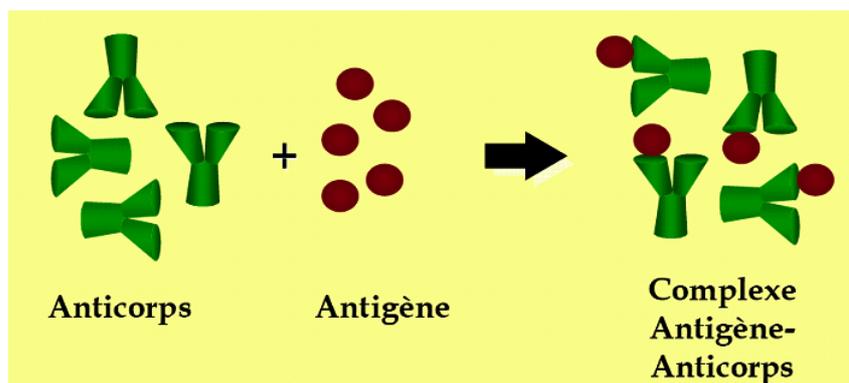
## Les anticorps :

Production, par un processus biotechnologique, des anticorps monoclonaux ou polyclonaux qui "reconnaissent" une molécule spécifique.

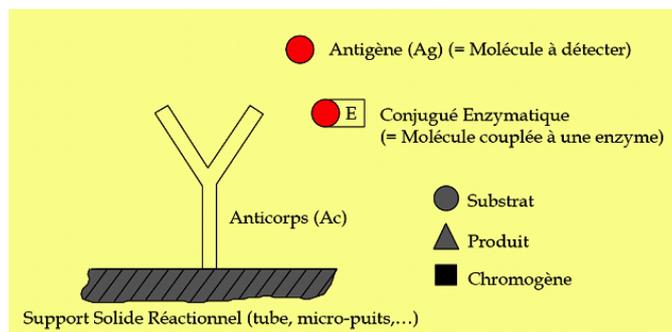


## Réactions antigènes / Anticorps :

Liaison covalente forte de l'antigène aux anticorps immobilisés sur un support solide

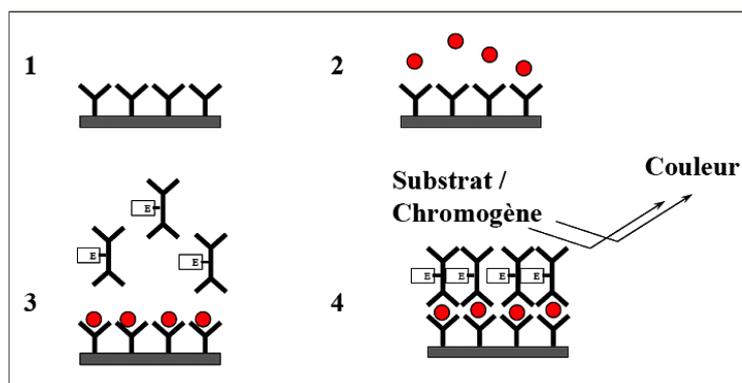


## Les éléments d'un kit Elisa :



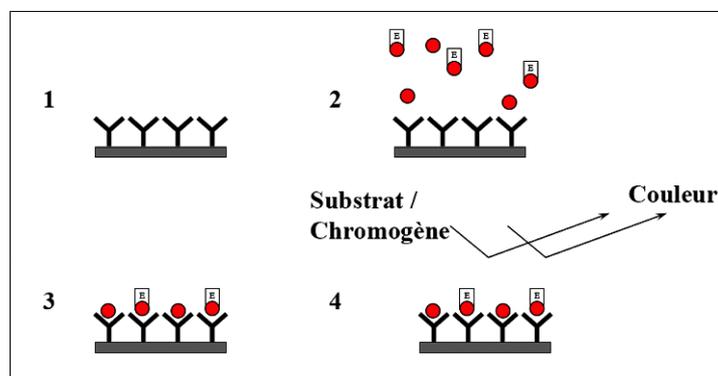
## Les différents types :

### ✚ Elisa type "sandwich"



La couleur développée (= activité enzymatique) est proportionnelle à la quantité de molécules à détecter présente dans l'échantillon

### ✚ Elisa type "compétition"



La couleur développée (= activité enzymatique) est inversement proportionnelle à la quantité de molécules à détecter présente dans l'échantillon

## Méthodologie

### 🔧 Séquence des étapes de l'Elisa type "sandwich"

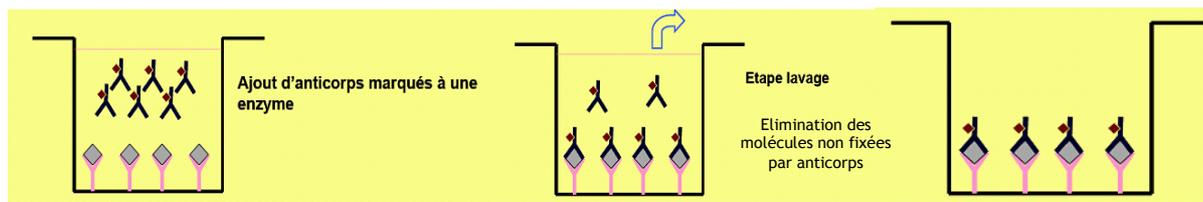


Etape 1

Etape 2

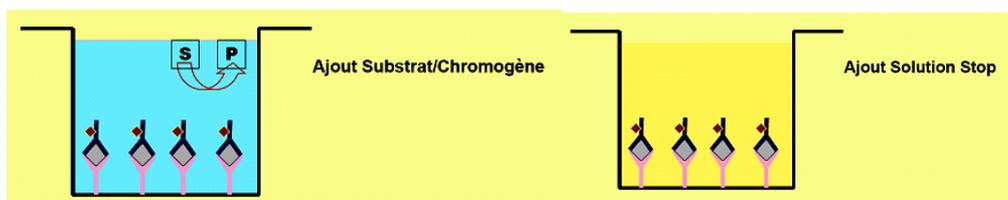


Etape 3



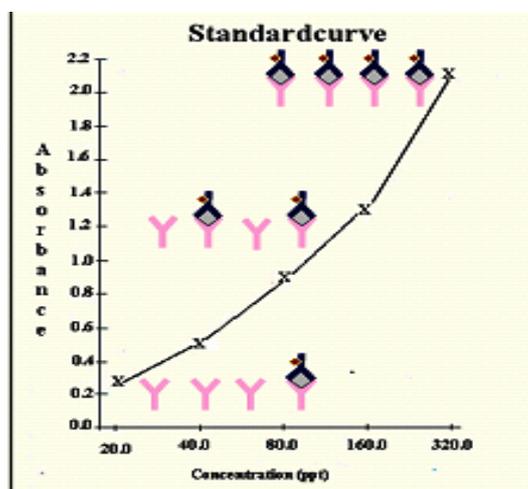
Etape 4

Etape 5



Etape 6

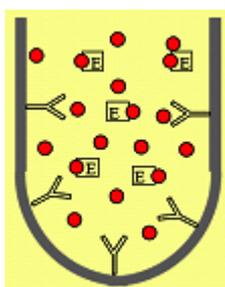
Etape 7



Etape 8 : La révélation

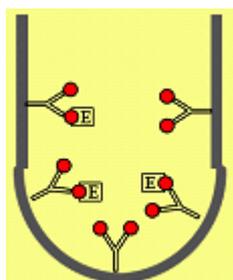
## 🚧 Séquence des étapes de l'Elisa type "Compétition Directe"

Etape 1 : Echantillons ou solutions étalon ( ● ) doivent être mélangés en quantité égale et homogène avec le conjugué enzymatique ( E● ) dans un micro-puits de "mélange" (non revêtu d'anticorps).



Etape 2 : Le mélange échantillons ou solutions étalon ( ● ) et conjugué enzymatique ( E● ) sont alors introduits dans les tubes ou micro-puits dont les parois sont recouvertes d'anticorps. Ils vont alors entrer en compétition pour se lier aux anticorps fixés sur les parois du tube ou du micro-puits. Ces anticorps sont spécifiques de la molécule à détecter et sont responsables de la grande spécificité du test.

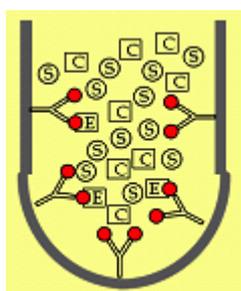
Les anticorps sont présents en nombre égal dans chaque puit ou micro-puits.



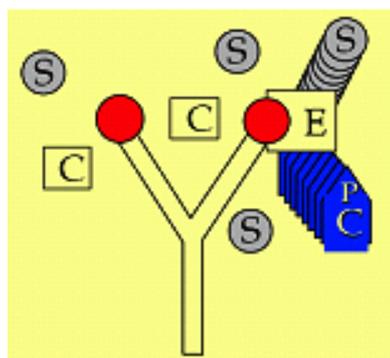
Etape 3 et 4 : Après une période d'incubation, les tubes ou micro-puits subissent plusieurs lavages.

A l'issue de ces lavages, seules les molécules et/ou conjugué enzymatique, qui sont liées aux anticorps resteront fixées sur les parois. Le lavage permet d'éliminer certains interférents qui peuvent influencer sur le résultat du test au moment de la détection.

La quantité de conjugué enzymatique restant dans le tube ou le micro-puits sera inversement proportionnelle à la quantité de molécules présente dans l'échantillon ou la solution étalon ajoutée au début du test.

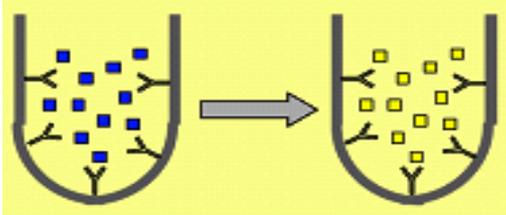


Etape 5 et 6 : ajouter le substrat puis le chromogène



Etape 7 : Durant l'incubation, l'enzyme va catalyser la conversion des molécules du substrat (S) qui à son tour va réagir avec les molécules du Chromogène © dont la couleur vire de l'incolore au bleu.

Chaque molécule d'enzyme catalyse la conversion de milliers de molécules de substrat en produit réagissant avec le chromogène.

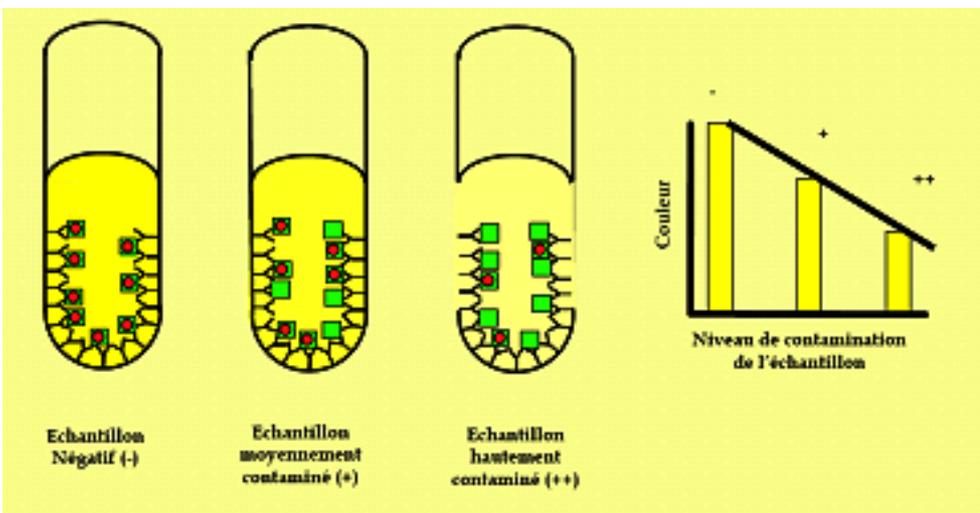


Etape 8 : Après une étape d'incubation, une solution stop est ajoutée.

La réaction de conversion est arrêtée immédiatement et la couleur vire du bleu au jaune (sauf pour certains kits)

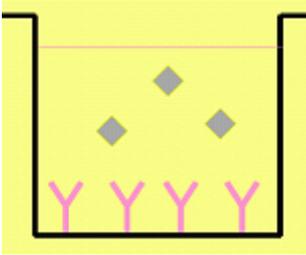
La densité Optique (DO) de la solution est alors mesurée à 450 nm.

L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle au niveau de la contamination.

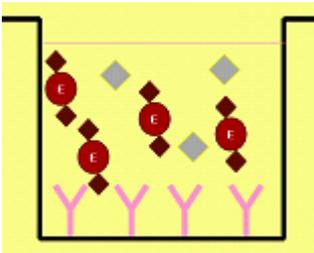


Etape 9 : révélation

## 🚧 Séquence des étapes de l'Elisa type "Compétition Indirecte"

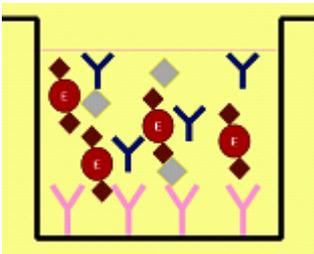


Etape 1 : échantillons ou solution (  ) sont introduits dans les tubes ou micro-puits dont les parois sont recouvertes d'anticorps anti-IgG. Ces anticorps anti-IgG sont spécifiques des anticorps dirigés contre la molécule à détecter.



Etape 2 : le conjugué enzymatique (  ) est alors ajouté.

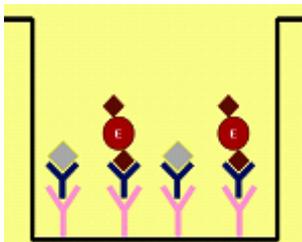
Le conjugué enzymatique est ajouté en quantité égale dans chaque tube ou micro-puit.



Etape 3 : L'anticorps (  ) dirigé contre la molécule à détecter est alors ajouté.

L'anticorps est ajouté en quantité égale dans chaque tube.

La réaction de compétition commence.

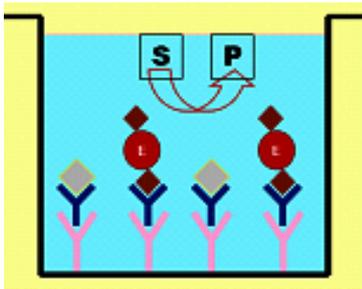


Etape 4 et 5 : après une période d'incubation, les tubes subissent plusieurs lavages.

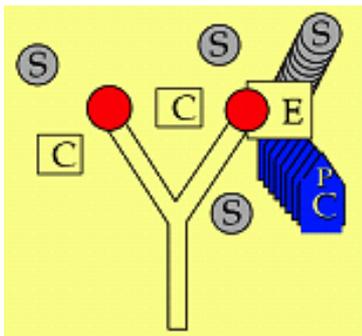
A l'issue de ces lavages, seules les molécules et/ou conjugué enzymatique, qui se sont liées aux anticorps et ensuite aux anticorps anti-IgG resteront fixées sur les parois.

Le lavage permet d'éliminer certains interférents qui peuvent influencer le résultat du test au moment de la détection.

La quantité de conjugué enzymatique restant dans le tube sera inversement proportionnelle à la quantité de molécules présente dans l'échantillon ou la solution étalon ajoutée au début du test.

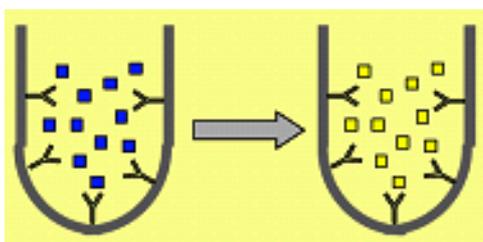


Etape 6 : ajouter le substrat / chromogène



Etape 7 : Durant l'incubation, l'enzyme va catalyser la conversion des molécules du substrat (S) qui a son tour va réagir avec les molécules du Chromogène © ont la couleur vire de l'incolore au bleu.

Chaque molécule d'enzyme catalyse la conversion de milliers de molécules de substrat en produit réagissant avec le chromogène.

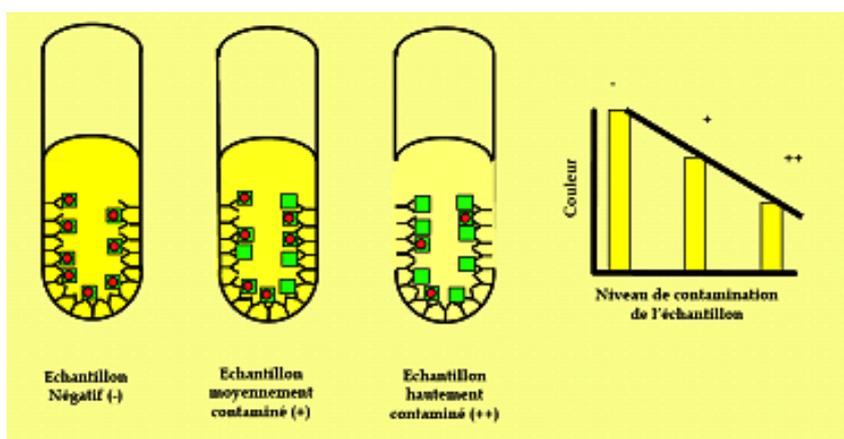


Etape 8 : Après une étape d'incubation, une solution stop est ajoutée.

La réaction de conversion est arrêtée immédiatement et la couleur vire du bleu au jaune, en général.

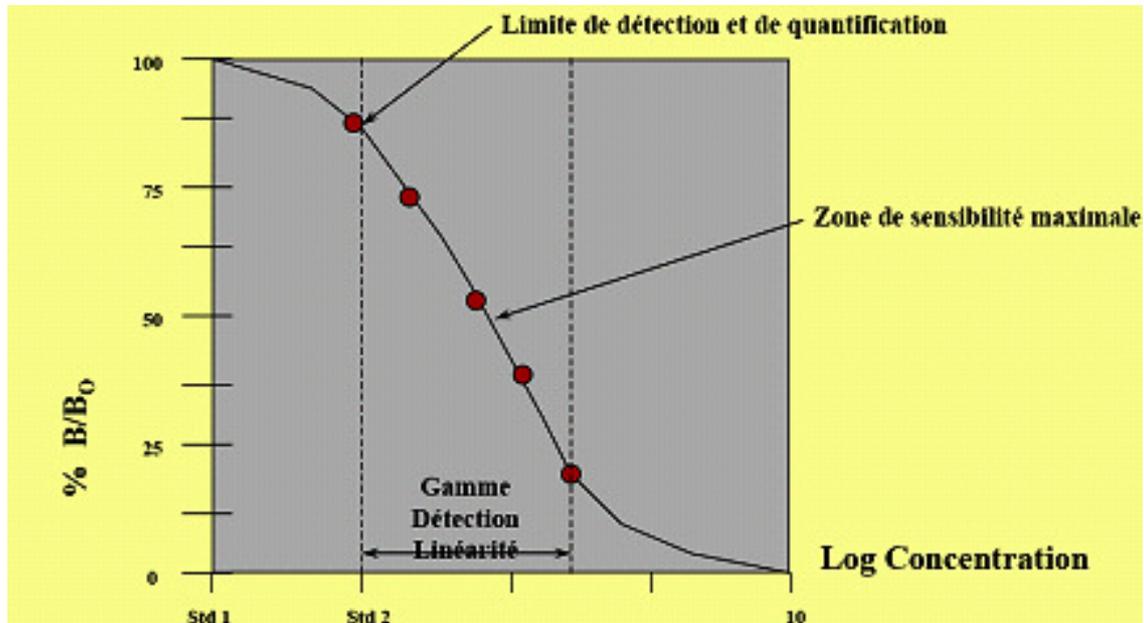
La densité Optique (DO) de la solution est alors mesurée à 450 nm.

L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle au niveau de la contamination.



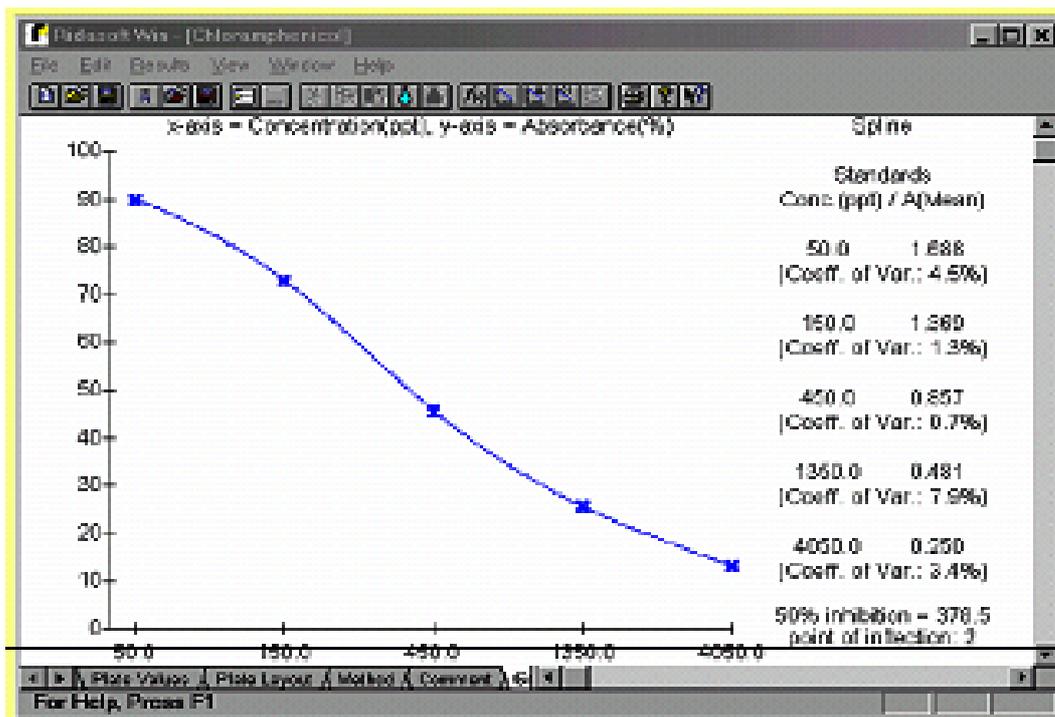
Etape 9 : révélation

✚ Exemple de courbe d'activité enzymatique ELISA "compétition directe ou indirecte"



$$\% B/B_0 = 100 \times (\text{D.O. échantillon} / \text{D.O. étalon négatif})$$

✚ Exemple de courbe de calibration ELISA "compétition directe ou indirecte"



## Annexe II : Calculs des résultats

Les kits utilisés pour la détection du DON par ELISA sont dits "*par compétition*". Dans ce type de tests, l'antigène à doser (étalon ou échantillon) entre en compétition avec une quantité connue d' Ag<sup>1</sup> marqué par une enzyme pour se lier avec les anticorps spécifiques fixés sur la plaque ou la barrette de microtitration. On observe alors une relation inversement proportionnelle entre le signal de DO obtenu et la quantité d'Ag contenu dans l'échantillon (figure 1). Ainsi, plus il y a d'Ag dans l'échantillon plus le signal DO est faible car l'affinité de l'anticorps est plus grande vis à vis de l'Ag libre que vis à vis de l'Ag marqué.

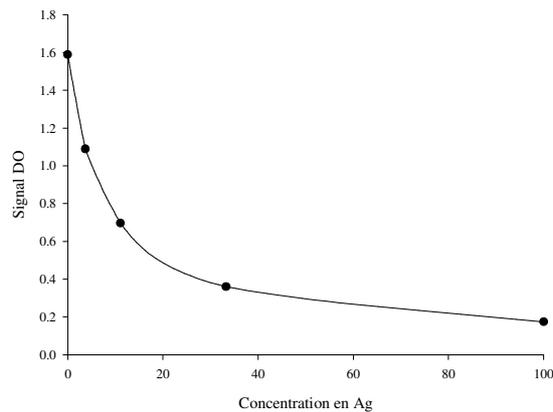


Figure 1 : Relation entre le signal DO et la concentration en Ag  
Dans un test ELISA par compétition

Les tests proposés dans le commerce apportent une information qui est soit *qualitative* (ou semi-quantitative), on estime alors le résultat en comparant l'essai avec la réponse d'un standard, soit *quantitative* et dans ce cas, il est nécessaire de passer plusieurs standards pour construire une courbe étalon permettant de calculer une concentration.

### Tests semi-quantitatifs

2 principes de lecture des résultats existent :

- Le résultat est obtenu en comparant la couleur de l'essai à celle d'un témoin de concentration connue. Cette appréciation est visuelle, elle se fait sur un fond blanc. Si l'essai est plus coloré que le témoin, il contient moins de DON que la valeur indicative du témoin. Pour plus de sûreté, l'appréciation peut se faire à l'aide d'un lecteur de microplaques.
- La procédure est sensiblement la même mais un seul étalon à 1 ppm est fourni (témoin à 2 ppm optionnel), la couleur obtenue pour un échantillon positif varie du bleu au rose et la lecture photométrique se fait à 650 nm (données non contractuelles).

### Tests quantitatifs

Le principe général consiste à établir une courbe étalon avec des solutions contenant des concentrations connues d'Ag. Le fabricant fournit une série de dilutions successives afin

---

<sup>1</sup> Ag : antigène

d'obtenir des concentrations finales différentes d'un facteur 2 ou 3. Différents modes de représentation peuvent être utilisés pour les courbes d'étalonnage. Si l'on revient à la figure 1, on constate que la portion verticale de la courbe présente une grande variation du signal pour de faibles variations de concentrations tandis que la portion horizontale fait apparaître la situation inverse, c'est à dire de faibles variations du signal pour de fortes variations de concentrations. Pour permettre de calculer plus facilement une concentration, les données sont d'abord transformées de manière à exprimer l'intensité du signal sur une échelle de 0 à 100, la valeur de DO du point 0 ppm ou ppb (selon le test) de DON correspondant à 100 et les autres valeurs de DO sont exprimées en % de cette valeur (B/Bo %).

$$B/Bo \% = \frac{DO \text{ standard ou échantillon (B)}}{DO \text{ étalon 0 ppb ou ppm (Bo)}} \times 100$$

On reporte ensuite l'intensité du signal B/Bo (échelle linéaire) en fonction de la concentration en DON (échelle semi-logarithmique) (figure 2).

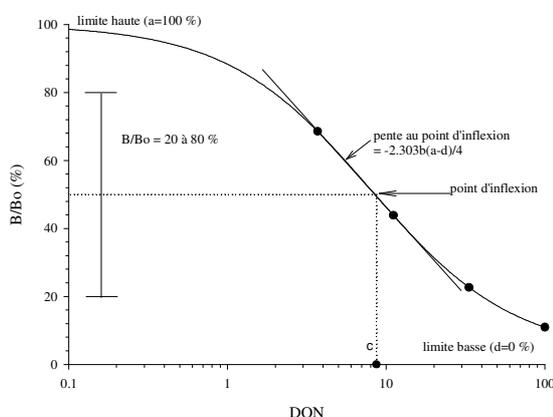


Figure 2 : Représentation du signal B/Bo (échelle linéaire) en fonction de la concentration en DON (échelle semi-logarithmique)

Le haut de la courbe est un plateau correspondant à la valeur du signal en l'absence d'Ag non marqué, le bas est également un plateau correspondant à de la fixation non spécifique sur l'Ac. La valeur c correspond à la concentration en Ag non marqué qui provoque une fixation de 50 % de l'Ag marqué. On considère dans ce type de réaction que si les 2 types d'Ag se fixent réversiblement sur les mêmes sites, la réaction à l'équilibre peut être décrite par l'équation suivante :

$$y = \frac{(a - d)}{1 + \left(\frac{x}{c}\right)^b} + d$$

avec :

a: signal maximum, d: signal minimum, b: terme relatif à la pente au point d'inflexion, a-d=Bo, y-d=B

La concentration en mg/kg (ppm) ou en µg/kg (ppb) correspondant au pourcentage d'activité de chaque échantillon, peut-être lue directement sur la courbe étalon. Il est important que la valeur de B/Bo s'inscrive dans la portion 20-80 %. Si un coefficient de variation inférieur à 25 % est requis, il convient de travailler uniquement dans la portion 40-60 %.

Pour plus de facilité, la plupart des fabricants proposent soit un lecteur de plaques ELISA faisant les calculs de concentrations soit un logiciel permettant de faire les calculs. Certains logiciels scientifiques permettent également de calculer les différents paramètres de l'équation (SigmaPlot, SPSS Inc. ; utilitaire *Fit curve*, puis *Standard curves* et *Four parameter logistic curve*). On peut également linéariser la courbe de la figure 2 en utilisant une représentation dite log-logit qui consiste à utiliser en ordonnées la fonction logit  $(B) = \log(B/Bo-B)$ . On trace alors la fonction :  $\log(B/Bo-B) = f(\log[DON])$  qui s'avère être une droite dont on peut calculer l'équation et à partir de là calculer des concentrations (figure 3).

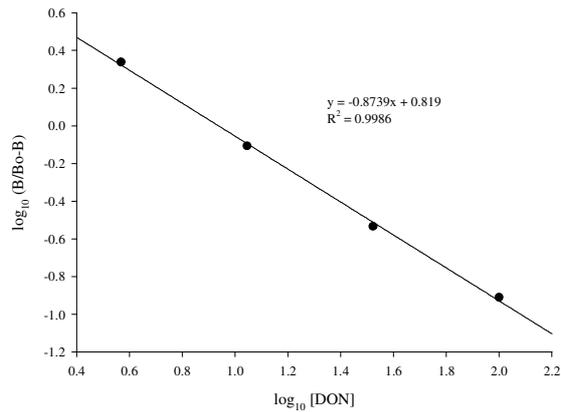


Figure 3 : Représentation dite log-logit du signal DO en fonction de la concentration en DON

## Annexe III : Kits disponibles

(Document indicatif et non exhaustif – pour plus de précisions, consulter les fournisseurs)

Unités : ppb ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

Quan = quantitatif ; SQ = semi-quantitatif ; Quali = qualitatif

**BioControl**  
**www.biocontrolsys.com**

Mycotoxine	Dénomination commerciale du kit	Matrices	Limite de détection (ppb)	Plage de quantification (ppb)	Type d'analyse
Aflatoxine B1	TRANSIA® Plate Aflatoxin B1	Fourrage, céréales, cacahouètes, maïs, blé, noisettes, figues, cacao, épices, thé et autres	0,5	0,5 - 5,0	Quan
Aflatoxine B1	Aflatoxine B1	Céréales, noisettes et dérivés	2	-	Quali
Aflatoxine M1	TRANSIA® Plate Aflatoxin M1	Lait et Fromages	5	5 - 100	Quan
Aflatoxines	QuickTox Aflatoxines	Céréales	20	-	Quali
Aflatoxines totales	TRANSIA® Plate Tot.Aflatoxins	Céréales, noix, amandes, cacahouètes, fruits secs, flocons de maïs	2	2 - 80	Quan
Aflatoxines totales	Aflatoxines Totales	Céréales, noisettes et dérivés	4	-	Quali
DON	TRANSIA® Plate DON	Céréales, graines de tournesol, flocons de maïs et bière	200	200 - 2500	Quan
DON	QuickTox DON	Céréales	500	-	Quali
Fumonisines	TRANSIA® Plate Fumonins	Céréales et amandes	300	300 - 6000	Quan
Ochratoxine A	Ochratoxin A	Céréales et fruits secs	2	2 - 40	Quan
Ochratoxine A	Ochratoxine A	Céréales et café vert	4	-	Quali
Ochratoxine A	Ochratoxine A	Vin rouge	1	-	Quali
Toxine T2	T-2 Toxin	Céréales, fourrage	30	30-1000	Quan
Zéaralénone	Zéaralénone	Céréales	100	-	Quali

<b>Mycotoxine</b>	<b>Dénomination commerciale du kit</b>	<b>Matrices</b>	<b>Limite de détection (ppb)</b>	<b>Plage de quantification (ppb)</b>	<b>Type d'analyse</b>
Aflatoxine B1	Celer AFLA B1	céréales, aliments pour animaux, noix et fruits secs	1	1 - 40	Quan
Aflatoxines totales	Celer AFLA (Totales)	céréales, maïs, aliments pour animaux, noix, fruits secs, paprika et piment	2	2 - 80	Quan
Ochratoxine A	l'screen OCHRA	céréales, aliments pour animaux, café vert, vin et jus de raisin, cacao	0,1	0,1 - 100	Quan
Zéaralénone	Celer ZON	céréales, aliments pour animaux	10	10 - 1000	Quan
Fumonisines	Celer FUMO	céréales	750	750 - 60000	Quan
Toxine T2	T2 Elisa kit	maïs et produits dérivés	25	25 - 500	Quan
DON	Celer DON	maïs, blé et aliments pour animaux	40	40 - 5000	Quan

<b>Mycotoxine</b>	<b>Dénomination commerciale du kit</b>	<b>Matrices</b>	<b>Limite de détection (ppb)</b>	<b>Plage de quantification (ppb)</b>	<b>Type d'analyse</b>
Aflatoxines	VERATOX® Aflatoxine	Farine de maïs (corn meal), farine de germe de maïs, farine de gluten de maïs, maïs, popcorn, riz, son de riz, farine de soja, blé, orge, figues, ddgs, pet-food, cacahuètes, drêche d'éthanol....	2	5 - 50	Quan
	VERATOX® Aflatoxine HS	Farine de maïs (corn meal), farine de germe de maïs, farine de gluten de maïs, maïs, popcorn, riz, son de riz, farine de soja, blé, orge, figues, ddgs, pet-food, cacahuètes, drêche d'éthanol....	0,5	1 - 8	Quan
DON	VERATOX® DON HS	Blé, son de blé, farine de blé, finots de blé, orge, maïs, farine de maïs, farine de gluten de maïs, criblures de maïs, ensilage de maïs, orge malté, avoine, riz, farine de soja, ddgs, pet-food, tmr, drêche d'éthanol....	25	25 - 250	Quan
	VERATOX® DON 5/5	Blé, son de blé, farine de blé, finots de blé, orge, maïs, farine de maïs, farine de gluten de maïs, criblures de maïs, ensilage de maïs, orge malté, avoine, riz, farine de soja, ddgs, pet-food, tmr, drêche d'éthanol....	100	250 - 5000	Quan
Fumonisines	VERATOX® Fumonisine	Orge, maïs, farine de maïs, corn gluten, germe de maïs, drêche d'éthanol, ensilage de maïs, avoine, Petfood, riz, seigle, soja, tournesol...	200	1000 - 6000	Quan
	VERATOX® Fumonisine 5/10	Orge, maïs, farine de maïs, corn gluten, germe de maïs, drêche d'éthanol, ensilage de maïs, avoine, Petfood, riz, seigle, soja, tournesol...	200	500 - 6000	Quan
	VERATOX® Fumonisine HS	Orge, maïs, farine de maïs, corn gluten, germe de maïs, drêche d'éthanol, ensilage de maïs, avoine, Petfood, riz, seigle, soja, tournesol...	50	50 - 600	Quan
Ochratoxine A	VERATOX® Ochratoxine	Blé, farine de blé, son de blé, maïs, orge, seigle, café vert, abricots, dates, figues, pois, pop corn, pomme de terre, raisins, vin, riz, soja ...	1	2 - 25	Quan
Toxines T2-HT2	VERATOX® Toxine T2 et HT2	Blé, farine de blé, son de blé, gluten de blé, orge, avoine, seigle, maïs, farine de maïs, corn gluten, riz, soja, pois, drêche d'éthanol...	25	25 - 250	Quan
Zéaralénone	VERATOX® Zéaralénone	Blé, farine de blé, son de blé, orge, maïs, avoine, seigle, Petfood, pomme de terre, Petfood, riz, soja, Tapioca, drêche d'éthanol...	5	25 - 500	Quan

<b>Mycotoxine</b>	<b>Dénomination commerciale du kit</b>	<b>Matrices</b>	<b>Limite de détection (ppb)</b>	<b>Plage de quantification (ppb)</b>	<b>Type d'analyse</b>
Aflatoxines	ABRAXIS 53012B	Noix et céréales	2	2 - 100	Quan ou SQ
	EUROPROXIMA PLATE 5121AFT	Produits d'alimentation humaine et animale	0,5	0,5 - 16	Quan
	EUROPROXIMA RAPID TEST	Noix et céréales	5	-	Quali
Aflatoxine M1	EUROPROXIMA PLATE 5121AFM1	Lait infantile / Fromages / Beurre / MGLA	4	6,25 - 200	Quan
DON	ABRAXIS 53016B	Noix et céréales	200	200 - 2500	Quan ou SQ
	EUROPROXIMA PLATE 5121DON	Céréales et bière	1,5	1,5 - 50	Quan
		Produits d'alimentation animale et ensilage	30	30 - 1000	Quan
	EUROPROXIMA DON RAPID TEST	Céréales	500	-	Quali
Fumonisines	ABRAXIS 53014B	Maïs, corn meal, corn gluten, maïs et soja	300	300 - 6000	Quan ou SQ
	EUROPROXIMA 5121FUM	Maïs	3	3 - 100	Quan
Ochratoxine A	EUROPROXIMA PLATE 5121OCH	Vins	0,25	0,25 - 5	Quan
		Cacao, cafés vert et soluble, céréales	1	1,25 - 25	Quan
	OCHRAWINE RAPID TEST	Vins	2	-	Quali
	OCHRATOXINE RAPID TEST	Café vert , céréales	4	-	Quali
Toxines T2-HT2	ABRAXIS 53013B	Maïs, corn meal, corn gluten, maïs et soja	25	25 - 500	Quan
	EUROPROXIMA 5121TOX1p	Céréales et Ensilage	30	31 - 1000	Quan
Zéaralénone	ABRAXIS 53018B	Maïs, corn meal, corn gluten, maïs et soja	20	20 - 1000	Quan ou SQ
	EUROPROXIMA PLATE 5121ZON	Céréales (Extraction SPE)	0,7	0,7 - 12,5	Quan
		Céréales ( ELISA Quick TEST)	8	-	Quali
	EUROPROXIMA RAPID TEST	Céréales	100	-	Quali

<b>Mycotoxine</b>	<b>Dénomination commerciale du kit</b>	<b>Matrices</b>	<b>Limite de détection (ppb)</b>	<b>Plage de quantification (ppb)</b>	<b>Type d'analyse</b>
Aflatoxines	RIDASCREEN® Aflatoxin Total	Céréales et aliments pour animaux	1,75	0,05 - 4,05	Quan
	RIDASCREEN® FAST Aflatoxin	Céréales, aliments pour animaux et produits à coques dures	1,7	1,7 - 45	Quan
	RIDASCREEN® Aflatoxin B1 30/15	Céréales et aliments pour animaux	1	1 - 50	Quan
	RIDASCREEN® FAST Aflatoxin SC	Céréales et aliments pour animaux	2	2 - 100	Quan
DON	RIDASCREEN® FAST DON	Blé, l'orge, malt, avoine, maïs et aliments pour animaux	200 (360 pour l'avoine)	222 - 6000	Quan
	RIDASCREEN® DON SC	Céréales, malt et aliments pour animaux	74	74 - 6000	Quan
	RIDASCREEN® DON	Céréales, malt, aliments pour animaux, bière et moût	Céréales, malt, aliments pour animaux 18,5 - bière et moût 3,7	3,7 - 100	Quan
Fumonisines	RIDASCREEN® Fumonisin	Maïs et dérivés	25	25 - 2000	Quan
	RIDASCREEN® FAST Fumonisin	Céréales et aliments pour animaux	222	222 - 6000	Quan
Ochratoxine A	RIDASCREEN® Ochratoxin A 30/15	Céréales, aliments pour animaux, bière et moût	1,25 à 2,5	1,25 - 45 ou 2,5 - 90	Quan
	RIDASCREEN® FAST Ochratoxin A	Céréales, aliments pour animaux, vin, café et fruits secs	5	5 - 40	Quan
Toxine T2	RIDASCREEN® T-2 Toxin	Céréales et aliments pour animaux	3,5	3,5 - 56	Quan
		aliments pour animaux	35	35 - 560	Quan
	RIDASCREEN® FAST T-2 Toxin	Céréales et aliments pour animaux	20	50 - 400	Quan
Zéaralénone	RIDASCREEN® Zearalenon	Céréales non brutes, aliments pour animaux et baby-food	1,75	1,75 - 141,75	Quan
		Bière	0,25	0,25 - 20,25	Quan
	RIDASCREEN® FAST Zearalenon	Céréales et aliments pour animaux	17 à 41	50 - 400	Quan
	RIDASCREEN FAST Zearalenon SC	Céréales	5	25 - 1000	Quan

<b>Mycotoxine</b>	<b>Dénomination commerciale du kit</b>	<b>Matrices</b>	<b>Limite de détection (ppb)</b>	<b>Plage de quantification (ppb)</b>	<b>Type d'analyse</b>
Aflatoxine B1	ELISA AgraQuant® Total Aflatoxin B1 (COKAQ8000)	Céréales, fruits à coques, aliments (homme et animaux), épices, autres produits	2	2 - 50	Quan
Aflatoxine M1	ELISA AgraQuant® Aflatoxin M1	Lait et produits laitiers, pois chiches	0,089	0,1 - 2	Quan
Aflatoxine M1	ELISA AgraQuant® Aflatoxin M1 Sensitive	Lait et produits laitiers, pois chiches,	0,018	0,025 - 0.5	Quan
Aflatoxines totales	ELISA AgraQuant® Total Aflatoxin (COKAQ1000)	Céréales, fruits à coques, aliments (homme et animaux), autres produits	3	4 - 40	Quan
Aflatoxines totales	ELISA AgraQuant® Total Aflatoxin (COKAQ1100)	Céréales, fruits à coques, aliments (homme et animaux), épices, autres produits	1	1 - 20	Quan
DON	ELISA AgraQuant® DON (COKAQ4000)	Céréales, fruits à coques, aliments (homme et animaux), autres produits	200	250 - 5000	Quan
Fumonisines	ELISA AgraQuant® Total Fumonisin (COKAQ3000)	Céréales, fruits à coques, aliments (homme et animaux), autres produits	200	250 - 5000	Quan
Ochratoxines A et B	ELISA AgraQuant® Ochratoxin (COKAQ2000)	Céréales, fruits à coques, bière, cacao, café, aliments, vins, épices, autres produits	2	2 - 40	Quan
Toxine T2	ELISA AgraQuant® T-2 Toxin (COKAQ6000)	Céréales, fruits à coques, aliments (homme et animaux), autres produits	35	75 - 500	Quan
Zéaralénone	ELISA AgraQuant® ZON (COKAQ5000)	Céréales, fruits à coques, aliments (homme et animaux), autres produits	20	25 -1000	Quan



**Institut de Recherches Technologiques Agro-Alimentaires des Céréales**

**66 rue La Boétie**

**75008 Paris**

**Tél. : 01 43 55 38 70**

**Fax : 01 43 55 58 80**

**Site Internet : [www.irtac.org](http://www.irtac.org)**