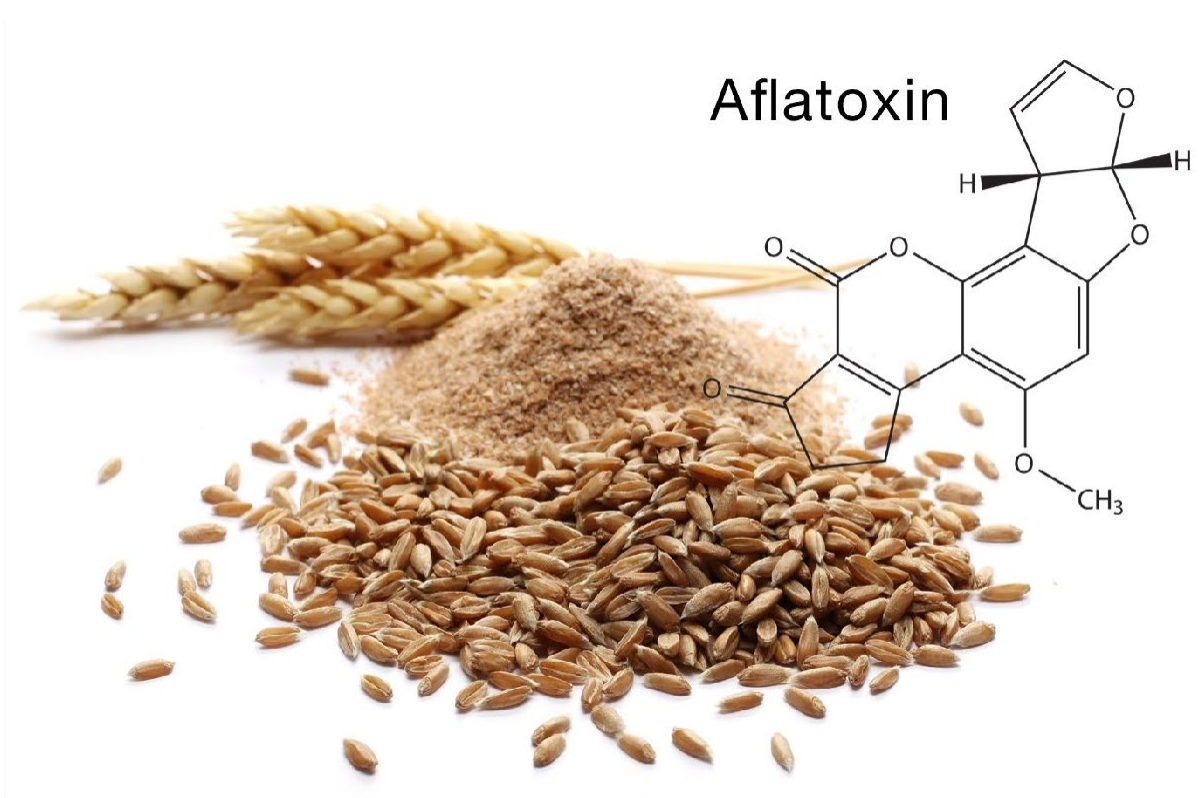


Helica® Total Aflatoxine ELISA à faible matrice (Total Aflatoxin Low Matrix ELISA Kit)

Référence produit – KIT5006 (981AFL01LM – 96)





ELISA pour aflatoxines totales à faible matrice

Pour la détection quantitative des aflatoxines B1, B2, G1 et G2 dans les céréales, les noix, les graines de coton, les céréales et tous les produits difficiles à mesurer en raison d'effets matriciels élevés, tels que l'ensilage et la plupart des épices.

Table des matières

Introduction – Aflatoxines.....	3
Utilisation prévue.....	3
Principe de la méthode.....	3
Contenu du kit.....	4
Matériel requis mais non fourni	4
Conservation et durée de vie	5
Précautions et élimination des déchets	5
Préparation des échantillons.....	6
Procédure d'analyse.....	8
Interprétation des résultats	9
Caractéristiques du test.....	10
Réactivité croisée	12
Références.....	12
Assistance technique.....	12



Introduction – Aflatoxines

Les aflatoxines sont des métabolites toxiques produits par diverses moisissures telles que *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*. Elles sont cancérigènes et peuvent être présentes dans les céréales, les noix, les graines de coton et d'autres produits liés à l'alimentation humaine ou animale. Les cultures peuvent être contaminées par un ou plusieurs des quatre sous-types d'aflatoxines : B1, B2, G1 et G2. L'aflatoxine B1 est la forme la plus toxique et la plus fréquemment détectée. Les autres types présentent un danger important si leur concentration est élevée.

Les aflatoxines ont été impliquées dans des troubles de la santé humaine, notamment le carcinome hépatocellulaire, l'aflatoxicose, le syndrome de Reye et l'hépatite chronique. Les animaux sont exposés aux aflatoxines en consommant des aliments contaminés par des souches fongiques productrices d'aflatoxines pendant leur croissance, leur récolte ou leur stockage. Les symptômes de toxicité chez les animaux vont de la mort à des maladies chroniques, en passant par des troubles de la reproduction, une immunosuppression et une diminution de la production de lait et d'œufs. La plupart des agences gouvernementales de contrôle dans le monde ont mis en place des réglementations concernant la quantité d'aflatoxines autorisée dans les denrées alimentaires destinées à la consommation humaine et animale. Il est donc primordial de pouvoir déterminer de manière précise et rapide la présence d'aflatoxines dans les produits.

Utilisation prévue

Les kits ELISA Helica® Mycotoxin d'Hygiena sont faciles à utiliser et économiques destinés à la détection des mycotoxines dans une large gamme de produits, notamment les aliments pour animaux, les céréales, le maïs et l'urine animale. Ils sont conçus pour protéger les humains et les animaux contre les effets secondaires dangereux des mycotoxines.

Le test ELISA Helica Total Aflatoxin Low Matrix est un test immuno-enzymatique compétitif permettant la détection quantitative de l'aflatoxine B1 dans les noix, les graines de coton, les céréales et tous les produits difficiles à mesurer en raison d'effets matriciels élevés, tels que l'ensilage et la plupart des épices.

Les données obtenues à partir des tests ne doivent pas être utilisées à des fins de diagnostic ou de traitement chez l'homme. Les tests ne sont pas approuvés par la Food and Drug Administration des États-Unis ni par aucune autre agence réglementaire américaine ou non pour une utilisation dans le diagnostic ou le traitement chez l'homme. Les tests ne doivent pas être utilisés comme seule source pour évaluer la sécurité des produits destinés à être mis à la disposition des consommateurs. Les informations générées ne doivent être utilisées qu'en conjonction avec le programme d'assurance qualité habituel de l'utilisateur.

Non approuvé pour le diagnostic clinique. À utiliser pour la recherche et le développement, l'assurance qualité et le contrôle qualité sous la supervision de personnes techniquement qualifiées.

Principe de la méthode

Le test ELISA Helica Total Aflatoxin Low Matrix est un test immunoenzymatique à inhibition compétitive en phase solide. Un anticorps spécifique à l'aflatoxine, optimisé pour réagir de manière croisée avec les quatre sous-types d'aflatoxine (voir les informations sur la réactivité croisée à la page 12), est déposé sur une microplaque en polystyrène. Les toxines sont extraites d'un échantillon broyé avec 50 % de méthanol, 80 % de méthanol ou 80 % d'acétonitrile et, après dilution, ajoutées au puits approprié. Si de l'aflatoxine est présente, elle se lie à l'anticorps enduit. Ensuite, de l'aflatoxine liée à la peroxydase de raifort (HRP) est ajoutée et se lie à l'anticorps qui n'est pas déjà occupé par l'aflatoxine présente dans l'échantillon ou l'étalon. Après cette période d'incubation, le contenu des puits est décanté, lavé et un substrat HRP est ajouté, qui développe une couleur bleue en présence d'enzyme. L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la quantité de conjugué lié et inversement proportionnelle à la quantité d'aflatoxine dans l'étalon ou l'échantillon. Par conséquent, à mesure que la concentration d'aflatoxine dans l'échantillon ou l'étalon augmente, l'intensité de la couleur bleue diminue. Une solution d'arrêt acide est ajoutée, ce qui fait passer la couleur du chromogène du bleu au jaune. Les



micropuits sont mesurés optiquement par un lecteur de microplaques avec un filtre d'absorbance de 450 nm (OD450). Les densités optiques des échantillons sont comparées aux DO des étalons du kit et les résultats sont déterminés par interpolation à partir de la courbe d'étalonnage.

Contenu du kit

Emballage/ Numéro	Composant	Description
1X Pochette	Plaque à micropuits recouverte d'anticorps	96 puits (12 bandes de huit puits) dans un support pour micropuits recouvert d'un anticorps anti-aflatoxine de souris, <i>prêt à l'emploi</i> .
Plaque 1X	Plaque de dilution	96 puits non enduits (12 bandes de huit puits) dans un support pour micropuits, <i>prêt à l'emploi</i> . (Puits de mélange)
Flacons 6X	Étalons	1,5 ml/flacon d'aflatoxine aux concentrations suivantes : 0,0, 0,02, 0,05, 0,1, 0,2 et 0,4 ng/ml dans 50 % de méthanol, <i>prêt à l'emploi</i> .
1 flacon	Conjugué	12 ml d'aflatoxine B1 conjuguée à la peroxydase dans un tampon avec conservateur, <i>prêt à l'emploi</i> .
2 flacons	Diluant pour dosage	2 x 12 ml de diluant pour échantillons exclusif, <i>prêt à l'emploi</i> .
Flacon 1X	Substrat	12 ml de tétraméthylbenzidine (TMB) stabilisée, <i>prête à l'emploi</i> .
Flacon 1X	Solution d'arrêt	12 ml de solution acide, <i>prête à l'emploi</i> .
1 sachet	Poudre PBS-T	PBS avec 0,05 % de Tween® 20*, compléter à 1 litre avec de l'eau distillée et conserver au réfrigérateur. (Tampon de lavage)

*TWEEN® 20 est une marque déposée de CRODA International Plc.

Matériel requis mais non fourni

- Broyeur suffisant pour réduire l'échantillon à une taille de particules équivalente à celle du café instantané fin
- Tube de collecte : capacité minimale de 250 ml
- Balance : capacité de mesure jusqu'à 20 g
- Éprouvette graduée : 250 ml
- Méthanol ou acétonitrile, qualité réactif : 50 à 200 ml par échantillon
- Eau distillée ou déionisée : 20 à 50 ml par échantillon
- Papier filtre : Whatman n° 1 ou équivalent
- Entonnoir à filtre
- Centrifugeuse
- Pipette avec embouts : 100 µL et 200 µL
- Tubes de dilution
- Minuteur
- Bouteille de lavage
- Serviettes en papier absorbant
- Lecteur de microplaques avec filtre 450 nm



Conservation

- Conserver les réactifs entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler.
- Les réactifs doivent être utilisés avant la date de péremption indiquée sur les étiquettes individuelles.
- Le conjugué marqué à la HRP et les substrats TMB sont photosensibles et sont conditionnés dans un flacon opaque protégeant de la lumière. Conserver à l'abri de la lumière et replacer dans son emballage après utilisation.

Précautions et élimination des déchets

Précautions générales :

- Amener tous les réactifs à température ambiante (19 - 25 °C) avant utilisation.
- Ne pas interchanger les réactifs entre des kits de numéros de lot différents.
- Ne pas utiliser les solutions si elles sont troubles ou si elles contiennent des précipités.
- Ne pas remettre les réactifs inutilisés dans leurs flacons d'origine. La procédure de dosage précise les volumes requis.
- Respecter toutes les conditions de temps et de température indiquées dans la procédure.
- Pendant l'extraction de l'échantillon, éviter toute contamination croisée.
- Les appareils, tels que les mixeurs, doivent être nettoyés après chaque préparation d'échantillon.
- Les échantillons testés doivent avoir un pH de 7,0 (\pm 1,0). Des conditions alcalines ou acides excessives peuvent affecter les résultats du test.

Précautions de sécurité :

Les mycotoxines (aflatoxines, trichothécènes et autres) sont des substances cancérigènes bien connues pour l'homme et sont considérées comme hautement toxiques. Les mycotoxines pouvant provoquer des maladies chez l'homme, des précautions de sécurité appropriées doivent être prises et un équipement de protection individuelle doit être porté lors de la manipulation d'échantillons, de réactifs, de verrerie et d'autres fournitures et équipements susceptibles d'être contaminés par des mycotoxines.

- Avant d'utiliser ce test, veuillez consulter la ou les fiches de données de sécurité disponibles sur www.hygiena.com.
- Se reporter aux pratiques en vigueur sur votre site pour une manipulation sûre des matériaux.
- Il est fortement recommandé de porter des gants de protection, une blouse de laboratoire et des lunettes de sécurité à tout moment lors de la manipulation des kits de détection des mycotoxines et de leurs composants respectifs. Considérer tous les matériaux, récipients et dispositifs exposés aux échantillons ou aux étalons comme contaminés par des mycotoxines.
- Ne jamais pipeter les réactifs ou les échantillons avec la bouche.
- Les étalons sont inflammables. Il convient de les utiliser et de les stocker avec précaution.
- La solution d'arrêt contient de l'acide sulfurique, qui est corrosif. Veuillez vous reporter à la fiche de données de sécurité (FDS). Éviter tout contact avec la peau ou les yeux. En cas d'exposition, rincer abondamment à l'eau.

Élimination :

Décontaminer les matériaux et éliminer les déchets conformément aux pratiques en vigueur sur votre site et aux réglementations locales. Ne pas jeter ces matériaux dans les égouts. Veuillez noter qu'il existe un risque de contamination par des mycotoxines dans ou sur l'un des composants du kit fourni.

- Jeter tous les matériaux, récipients et dispositifs dans le récipient approprié après utilisation. Avant de procéder au test, préparer un récipient pour y jeter les déchets dukit. Jeter les embouts de pipettes contaminés et tous les autres matériaux connexes dans ce récipient.
- Une fois le test terminé, le récipient doit être traité avec une quantité suffisante d'hypochlorite de sodium (NaOCl) à 5-6 % pour saturer son contenu (environ 1/10e du volume du récipient). Le NaOCl dénaturera les mycotoxines et neutralisera les déchets, ce qui permettra de les éliminer en toute sécurité. Retourner le récipient plusieurs fois pour bien en recouvrir tous les déchets.
- En cas de déversement accidentel de toxines, traiter la surface déversée avec une solution de NaOCl à 5-6 % pendant au moins 10 minutes, puis avec une solution aqueuse d'acétone à 5 %. Essuyer avec des serviettes en papier absorbantes.



Préparation des échantillons

Remarque : l'échantillon doit être prélevé conformément aux techniques d'échantillonnage appropriées établies.

Procédure d'extraction

Maïs, blé, foin, ensilage, paprika, pistache et arachide

1. Broyer un échantillon représentatif jusqu'à obtenir une granulométrie équivalente à celle du café instantané fin (95 % passe à travers un tamis de 20 mesh).
2. Préparer la solution d'extraction (80 % de méthanol ou 80 % d'acétonitrile) en ajoutant 20 ml d'eau distillée ou déionisée à 80 ml de méthanol ou d'acétonitrile (de qualité réactive) pour chaque échantillon à tester.
3. Peser une portion broyée de 20 g de l'échantillon et ajoutez 100 ml de solvant d'extraction (80 %).
Remarque : le rapport entre l'échantillon et le solvant d'extraction est de 1:5 (p/v).
4. Mélanger en agitant dans un récipient hermétique ou un mélangeur pendant au moins 2 minutes.
5. Laisser les particules se déposer, puis filtrer 5 à 10 ml de l'extrait à travers un papier filtre Whatman n° 1 (ou équivalent) et recueillir le filtrat à tester.
6. Diluer une aliquote de l'extrait à 1:10 avec du PBS-T reconstitué.
7. L'échantillon est maintenant prêt à être testé.
8. La dilution finale à utiliser dans les calculs est de **1:50**.

Sauce soja

1. Préparer la solution d'extraction (80 % d'acétonitrile) en ajoutant 20 ml d'eau distillée ou déionisée à 80 ml d'acétonitrile (de qualité réactive) pour chaque échantillon à tester.
2. Placer 20 ml de l'échantillon dans un récipient et ajouter 100 ml de solvant d'extraction (80 % d'acétonitrile).
Remarque : le rapport entre l'échantillon et le solvant d'extraction est de 1:5 (v/v).
3. Mélanger en agitant dans un récipient hermétique ou un mixeur pendant au moins 5 minutes.
4. Laisser les couches d'acétonitrile et de sauce soja se séparer. Il est également possible de centrifuger une partie de l'échantillon à 3 500 tr/min pendant 5 minutes pour accélérer la séparation. Recueillir la couche supérieure contenant l'aflatoxine à tester.
5. Diluer une aliquote de l'extrait à 1:10 avec du PBS-T reconstitué.
6. L'échantillon est maintenant prêt à être testé.
7. La dilution finale à utiliser pour les calculs est de **1:50**.

Soja, piment, coriandre et cilantro

1. Broyer un échantillon représentatif jusqu'à obtenir une granulométrie équivalente à celle du café instantané fin (95 % passe à travers un tamis de 20 mesh).
2. Préparez le solvant d'extraction (80 % d'acétonitrile) en ajoutant 20 ml d'eau distillée ou déionisée à 80 ml d'acétonitrile pour chaque échantillon à tester.
3. Transférer 100 ml d'acétonitrile à 80 % dans un récipient et ajouter 20 g de l'échantillon broyé.
Remarque : le rapport entre l'échantillon et le solvant d'extraction est de 1:5 (p/v).
4. Mélangez en agitant dans un récipient fermé pendant au moins 5 minutes.
5. Centrifuger l'échantillon à 3 500 tr/min pendant 5 minutes. Il est également possible de passer une portion de 5 à 10 ml de l'échantillon à travers un filtre et de recueillir le filtrat à tester.
6. Diluer une aliquote de l'extrait à 1:10 avec du PBS-T reconstitué.
7. L'échantillon est maintenant prêt.
8. La dilution finale à utiliser dans les calculs est de **1:50**.



Huile de maïs et huile d'arachide

1. Préparer la solution d'extraction (80 % d'acétonitrile) en ajoutant 40 ml d'eau distillée ou déionisée à 160 ml de méthanol ou d'acétonitrile (de qualité réactive) pour chaque échantillon à tester.
2. Placer 10 ml de l'échantillon dans un récipient et ajouter 200 ml de solvant d'extraction (80 % d'acétonitrile).
Remarque : le rapport entre l'échantillon et le solvant d'extraction est de 1:20 (v/v).
3. Mélanger en agitant dans un récipient hermétique ou un mélangeur pendant au moins 30 minutes.
4. Laisser l'acétonitrile et les couches d'huile se séparer. Vous pouvez également centrifuger une partie de l'échantillon à 3 500 tr/min pendant 5 minutes pour accélérer la séparation. Recueillir la couche supérieure contenant l'aflatoxine à tester.
5. Diluer une aliquote de l'extrait à 1:10 avec du PBS-T reconstitué.
6. L'échantillon est maintenant prêt à être testé.
7. La dilution finale à utiliser dans les calculs est de **1:200**.

Huile de carthame, huile de sésame et huile végétale

1. Préparer la solution d'extraction (80 % d'acétonitrile) en ajoutant 40 ml d'eau distillée ou déionisée à 160 ml de méthanol ou d'acétonitrile (de qualité réactive) pour chaque échantillon à tester.
2. Placer 10 ml de l'échantillon dans un récipient et ajouter 100 ml du solvant d'extraction (80 %).
Remarque : le rapport entre l'échantillon et le solvant d'extraction est de 1:10 (v/v).
3. Mélanger en agitant dans un récipient hermétique ou un mélangeur pendant au moins 30 minutes.
4. Laisser les couches d'acétonitrile et d'huile se séparer. Vous pouvez également centrifuger une partie de l'échantillon à 3 500 tr/min pendant 5 minutes pour accélérer la séparation. Recueillir la couche supérieure contenant l'aflatoxine à tester.
5. Diluer une aliquote de l'extrait à 1:10 avec du PBS-T reconstitué.
6. L'échantillon est maintenant prêt à être testé.
7. La dilution finale à utiliser pour les calculs est de **1:100**.

Lait maternisé pour nourrissons et enfants en bas âge

1. Préparer la solution d'extraction (50 % de méthanol) en ajoutant 50 ml d'eau distillée ou déionisée à 50 ml de méthanol (de qualité réactive) pour chaque échantillon à tester.
2. Placer 20 g de l'échantillon dans un récipient et ajoutez 100 ml de solvant d'extraction (50 % de méthanol).
Remarque : le rapport entre l'échantillon et le solvant d'extraction est de 1:5 (p/v).
3. Mélanger en agitant dans un récipient hermétique ou un mixeur pendant au moins 10 minutes.
4. Centrifuger l'échantillon à 3 500 tr/min pendant 5 minutes pour précipiter les particules.
5. Recueillir le surnageant contenant l'aflatoxine à tester et passer aux procédures d'analyse. Il n'est pas nécessaire de diluer davantage l'échantillon dans le tampon de lavage.
Remarque : selon leur composition, certaines préparations pour nourrissons peuvent contenir une couche grasseuse flottante qui doit être aspirée. Utiliser la couche plasmatique inférieure pour l'analyse.
6. La dilution finale à utiliser pour les calculs est de **1:5**.

Céréales de riz pour tout-petits

1. Broyer un échantillon représentatif jusqu'à obtenir une granulométrie équivalente à celle du sucre en poudre. Il n'est pas nécessaire de passer l'échantillon à travers un tamis.
2. Préparer le solvant d'extraction (50 % de méthanol) en ajoutant 50 ml d'eau distillée ou déionisée à 50 ml de méthanol pour chaque échantillon à tester.
3. Transférer 100 ml de méthanol à 50 % dans un récipient et ajouter 20 g de l'échantillon broyé.
Remarque : le rapport entre l'échantillon et le solvant d'extraction est de 1:5 (p/v).
4. Mélanger en agitant dans un récipient fermé pendant au moins 10 minutes.
5. Centrifuger l'échantillon à 3 500 tr/min pendant 5 minutes pour précipiter les particules.



6. Recueillir le surnageant et passer à la procédure d'analyse. Il n'est pas nécessaire de diluer davantage l'échantillon dans le tampon de lavage.
7. La dilution finale à utiliser pour les calculs est de **1:5**.

Aliments pour animaux

1. Broyer un échantillon représentatif jusqu'à obtenir une granulométrie équivalente à celle du café instantané fin (95 % passe à travers un tamis de 20 mesh).
2. Préparez le solvant d'extraction (80 % d'acétonitrile) en ajoutant 40 ml d'eau distillée ou déionisée à 160 ml d'acétonitrile pour chaque échantillon à tester.
3. Transférer 200 ml d'acétonitrile à 80 % dans un récipient et ajouter 2 g de l'échantillon broyé.
Remarque : le rapport entre l'échantillon et le solvant d'extraction est de 1:100 (p/v).
4. Mélanger en agitant dans un récipient fermé pendant au moins 10 minutes.
5. Centrifuger l'échantillon à 3 500 tr/min pendant 5 minutes pour précipiter les particules.
6. Recueillir le surnageant contenant l'aflatoxine pour analyse.
7. Diluer une aliquote de l'extrait à 1:10 dans du PBS-T reconstitué.
8. La dilution finale à utiliser pour les calculs est de **1:1000**.

Eau potable

Ce test peut être utilisé pour détecter l'aflatoxine dans l'eau potable. Dans ce cas, utilisez l'échantillon tel quel, sans extraction ni dilution.

Procédure de dosage

1. Amener tous les réactifs à température ambiante avant utilisation. Préparez le tampon de lavage en reconstituant le sachet de poudre PBS-T en rinçant son contenu avec un léger jet d'eau distillée ou déionisée dans un récipient d'un litre. Remplissez à 1 litre avec de l'eau distillée ou déionisée et conservez au réfrigérateur lorsque vous ne l'utilisez pas.
2. Placer un puits de mélange dans un support pour microplaques pour chaque étalon et échantillon à tester. Placer un nombre égal de puits de microtitrage recouverts d'anticorps dans un autre support pour microplaques. Si vous utilisez un seul puits, ajustez les volumes en conséquence. Remettre les puits inutilisés dans le sachet en aluminium avec le dessiccant et le refermer.
3. Mélanger chaque réactif en agitant le flacon avant utilisation.
4. Verser 200 µL de diluant de test dans chaque puits de mélange.
Remarque : pour les échantillons de lait maternisé pour nourrissons ou enfants en bas âge, utiliser le diluant d'essai modifié fourni séparément (réf. 986BAF01LM-F). (Agitez bien le flacon avant utilisation. Utilisez le diluant d'essai modifié UNIQUEMENT pour les étalons). Pour les échantillons inconnus, utilisez le diluant d'échantillon fourni avec ce kit.
5. À l'aide d'un nouvel embout de pipette pour chaque échantillon, ajouter 100 µL de chaque étalon et échantillon préparé dans le puits de mélange approprié contenant le diluant. Mélanger en amorçant la pipette au moins trois (3) fois.
Remarque : l'opérateur doit noter l'emplacement de chaque étalon et échantillon tout au long du test.
6. À l'aide d'une nouvelle pointe de pipette pour chaque échantillon, transférer 100 µL du contenu de chaque puits de mélange dans un puits de microtitrage recouvert d'anticorps correspondant. Incuber à température ambiante pendant 30 minutes.
Remarque : les puits de mélange contiennent suffisamment de solution pour analyser chaque étalon et/ou échantillon en double (recommandé). Si chaque étalon ou échantillon est analysé en simple ou si davantage de répliqués sont nécessaires, les volumes de diluant de test et d'échantillon/étalon doivent être ajustés en conséquence.
7. Décanter le contenu des micropuits dans un bac de récupération. Laver les micropuits en les remplissant de tampon de lavage PBS-T, puis en décantant le liquide de lavage dans un bac de récupération. Répéter l'opération trois (3) fois au total.
8. Tapoter les micropuits (face vers le bas) sur une couche de serviettes absorbantes pour éliminer le tampon de lavage résiduel.
9. Ajouter 100 µL de conjugué HRP-aflatoxine dans chaque puits recouvert d'anticorps et incuber à température ambiante pendant 30 minutes. Couvrir pour éviter la lumière directe.
10. Répéter les étapes 7 et 8.



11. Mesurer le volume requis de solution de substrat (1 ml/bandelette ou 120 µl/puits) et le verser dans un récipient séparé. Ajouter 100 µl dans chaque micropuits. Incuber à température ambiante pendant 10 minutes. Couvrir pour éviter la lumière directe.
12. Mesurer le volume requis de solution d'arrêt (1 ml/bandelette ou 120 µl/puits) et le placer dans un récipient séparé. Ajouter 100 µl dans le même ordre et au même rythme que la solution de substrat.
13. Lire la densité optique (DO) de chaque micropuits à l'aide d'un lecteur de plaques de microtitrage équipé d'un filtre de 450 nm. Enregistrer la densité optique (DO) de chaque micropuits.
14. En définissant la norme zéro comme une liaison à 100 % (Bo), calculez le pourcentage de liaison (%B) pour chaque norme et chaque échantillon en tant que pourcentage de la liaison zéro (%B/Bo).

Interprétation des résultats

Construire une courbe dose-réponse en utilisant les valeurs OD exprimées en pourcentage (%B/Bo) de l'OD de l'étalon zéro (0,0) par rapport à la teneur en aflatoxine de l'étalon. Les inconnues sont mesurées par interpolation à partir de la courbe étalon.

Les informations figurant sur l'étiquette de chaque flacon étalon se réfèrent au contenu de ce flacon. Cependant, l'échantillon a été dilué à un rapport de 1:5, 1:10, 1:20 ou 1:100 avec le solvant d'extraction, conformément aux instructions de la procédure d'extraction, et également à un rapport de 1:10 dans le tampon de lavage (à l'exception des préparations pour nourrissons et enfants en bas âge et des céréales, qui ne sont pas diluées).

Par conséquent, le niveau d'aflatoxine indiqué par l'étalon doit être multiplié par 5, 50, 100, 200 ou 1000 afin d'indiquer les ng par gramme (ppb) du produit comme suit.

	Lait maternisé pour nourrissons et enfants en bas âge et céréales de riz pour enfants en bas âge	Maïs, blé, ensilage, arachide, sauce soja, soja, piment, coriandre et coriandre	Huile de carthame, huile de sésame et huile végétale	Huile de maïs et huile d'arachide	Aliments pour animaux
Standard (ng/mL)	Produit (ppb) 1:5	Produit (ppb) 1:50	Produit (ppb) 1:100	Produit (ppb) 1:200	Produit (ppb) 1:100
0	0	0	0	0	0
0,02	0,1	1	2	4	20
0,05	0,25	2,5	5	10	50
0,1	0,5	5	10	20	100
0,2	1	10	20	40	200
0,4	2	20	40	80	400

La dilution de l'échantillon donne une courbe standard : 0,1 – 2 ppb, 1 – 20 ppb, 2 – 40 ppb, 4 – 80 ppb ou 20 – 400 ppb selon les facteurs de dilution (voir la section sur la procédure d'extraction). Si un échantillon contient de l'aflatoxine à une concentration supérieure à la norme la plus élevée, il doit être dilué de manière appropriée dans un solvant d'extraction (lors de la préparation de l'échantillon) et testé à nouveau. L'étape de dilution supplémentaire doit être prise en compte lors de l'expression du résultat final.

Dans le cas de l'eau potable, il n'y a pas de prédilution, elle est donc mesurée avec une sensibilité égale à la norme la plus basse, qui est de 20 parties par trillion (ppt).

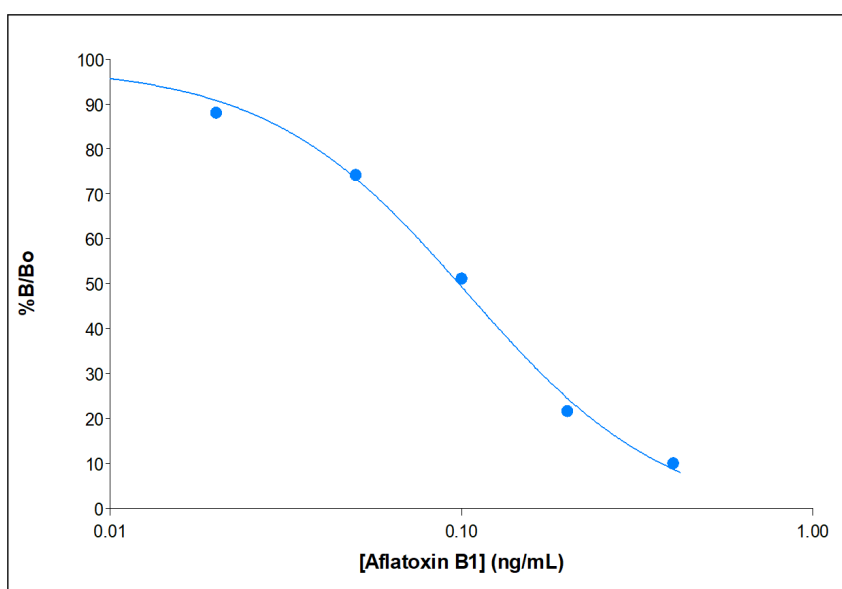


Caractéristiques du dosage

Les données issues de dix courbes standard consécutives utilisant le blé comme exemple ont donné les résultats suivants :

Standard (ng/mL)	%B/B ₀	CV (%)
0	100,0	-
0,02	88,6	2,6
0,05	74,2	3,3
0,1	51,0	5,9
0,2	21,8	11,3
0,4	9,9	5,0

La figure ci-dessous représente une courbe standard représentative pour l'aflatoxine B1 basée sur le tableau de données ci-dessus.



À titre d'exemple de produit à effet matriciel élevé, 13 échantillons d'ensilage, 5 de maïs, 2 de blé, 3 de foin et 3 de snaplage, qui avaient mesuré moins de 1 ppb pour B1, B2, G1 et G2 par HPLC, ont été extraits avec soit 80 % de méthanol, soit 80 % d'acétonitrile.

Après extraction avec du méthanol à 80 %, 12 échantillons sur 13 présentaient une concentration inférieure à 1 ppb, un seul échantillon d'ensilage de blé présentant une concentration de 1,2 ppb. Après extraction avec de l'acétonitrile à 80 %, 8 échantillons sur 12 présentaient une concentration inférieure à 1 ppb, 5 échantillons présentant une concentration moyenne de 1,5 ppb. Aucun échantillon ne présentait une concentration supérieure à 2 ppb.

La récupération moyenne d'un ajout de 5 ng/g (ppb) dans quatre des échantillons d'ensilage était la suivante :

	Extrait d'acétonitrile		Extrait de méthanol	
	ppb	% de récupération	ppb	% de récupération
Ajout	4,8	100	5,1	100
Maïs	4,1	85	2,5	49
Blé	4,8	100	2,7	53
Foin	4,6	96	2,7	53
Snaplage	4,6	96	2,9	57



Dans une expérience similaire, l'extraction du paprika, de la pistache et de l'arachide à l'aide de méthanol ou d'acétonitrile a donné un résultat inférieur à 1 ppb. Après un ajout de 5 ppb, les taux de récupération étaient respectivement de 96 %, 93 % et 67 % pour l'acétonitrile et de 67 %, 69 % et 58 % pour le méthanol.

Les récupérations de 5 ng/mL ajoutés à trois échantillons de sauce soja ou de soja extraits avec 80 % d'acétonitrile étaient les suivantes, sur la base de la moyenne de quatre expériences indépendantes :

Type de produit	ng/mL	% de récupération
Sauce soja	5,1	102
Soja	4,6	92

Les récupérations de 0,5 ppb ajoutées à des échantillons d'aliments pour nourrissons ou enfants en bas âge extraits avec 50 % de méthanol étaient les suivantes, sur la base de la moyenne de quatre expériences indépendantes :

Type de produit	ng/mL	% de récupération
Lait infantile	0,49	98
Lait infantile pour tout-petits	0,48	95
Céréales de riz pour tout-petits	0,44	88

Les récupérations de 5 ppb ajoutées à de la poudre de chili, des graines de coriandre moulues et des graines de cilantro moulues extraites avec 80 % d'acétonitrile étaient les suivantes, sur la base de la moyenne de quatre expériences indépendantes :

Type de produit	ng/mL	% de récupération
Poudre de chili	4,8	95,3
Graines de coriandre	4,8	95,0
Graines de coriandre	5,1	101,3

Les récupérations de 20 ppb ou 10 ppb ajoutées à des échantillons d'huile extraits avec 80 % d'acétonitrile étaient les suivantes, sur la base de la moyenne de trois expériences indépendantes :

Type de produit	ng/mL	% de récupération
Huile de maïs (20 ppb)	17,5	87
Huile d'arachide (20 ppb)	17,1	85
Huile de carthame (10 ppb)	9,3	93
Huile de sésame (10 ppb)	7,8	78
Huile végétale (10 ppb)	9,3	93

L'acétonitrile est le solvant d'extraction préféré, mais le méthanol peut être utilisé si son efficacité d'extraction est prise en compte.



Réactivité croisée

Le test présente une réactivité croisée avec les analogues de l'aflatoxine comme suit :

- B1 - 100 %
- B2 - 77 %
- G1 - 64 %
- G2 - 25 %

Références

- Kensler TW, Qian GS, Chen JG et Groopman JD (2003). Stratégies translationnelles pour la prévention du cancer du foie. *Nat Rev Cancer*. 3 : 321-329.
- Klich, MA (2007) Facteurs environnementaux et développementaux influençant *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*. *Mycoscience*. 48 : 71-80.
- Williams JH, Phillips TD, Jolly PE, Stiles JK, Jolly CM et Aggarwal D (2004). Aflatoxicose humaine dans les pays en développement : examen de la toxicologie, de l'exposition, des conséquences potentielles sur la santé et des interventions. *Am J Clin Nutr*. 80(5) : 1106-1122.

Assistance technique

Pour toute question ou commentaire, veuillez contacter votre distributeur local. Vous pouvez également envoyer un e-mail à techsupport@hygiena.com, consulter notre page [Contactez-nous](#) pour obtenir les numéros de téléphone régionaux ou demander une assistance technique à l'adresse <https://www.hygiena.com/hygiena/technical-support-request.html>.