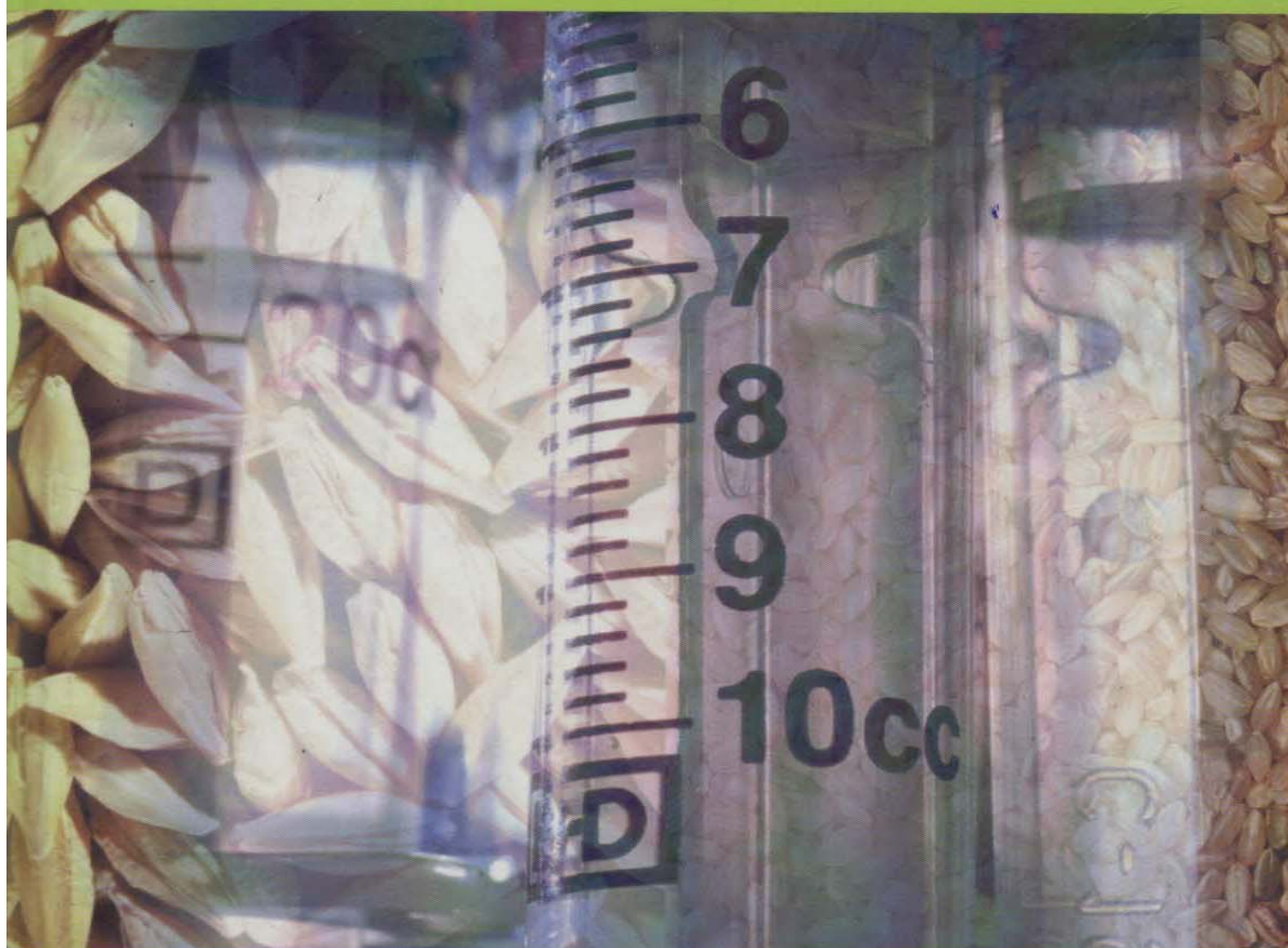




COLLECTION
SCIENCES & TECHNIQUES
AGROALIMENTAIRES

Patrice Arbault • Jean Daussant
coordonnateurs



Méthodes d'analyses immunochimiques pour le contrôle de qualité dans les IAA

**Editions
TEC
& DOC**

Lavoisier

Table des matières

Première partie

Techniques

Chapitre 1

Introduction aux techniques immunochimiques (*Jean Daussant et François-Xavier Desvaux*)

1. Bref historique.....	3
2. Fondements immunologiques des techniques immunochimiques	5
2.1. Antigènes et anticorps – Définitions, structures, fonctions et interactions	5
2.1.1. Antigènes et haptènes.....	5
2.1.2. Anticorps	8
2.1.3. Réaction antigène-anticorps	10
2.2. Aspects cellulaires et moléculaires de la production des anticorps.....	12
2.2.1. Acteurs cellulaires de la production des anticorps.....	12
2.2.2. Mécanismes cellulaires de la production des anticorps	12
2.2.3. Origine moléculaire de la diversité des anticorps	14
2.3. Principaux types d'anticorps utilisés dans les techniques immunochimiques	16
2.3.1. Anticorps polyclonaux	16
2.3.2. Anticorps monoclonaux	18
2.3.3. Anticorps recombinants	19
2.3.4. Autres types d'anticorps.....	21
2.3.5. Conditions d'utilisation des anticorps dans les techniques immunochimiques	22
3. Principes des techniques immunochimiques.....	22
3.1. Application de la formation du complexe antigène-anticorps.....	23
3.1.1. Techniques d'immunofluorescence	24
3.1.2. Techniques radio-immunologiques	28
3.1.3. Techniques immunoenzymatiques.....	28
3.2. Application de la réversibilité de la réaction antigène-anticorps – Chromatographie d'immunoaffinité	38
3.3. Application d'un effet secondaire résultant de la formation du complexe antigène-anticorps	40
3.3.1. Immunoprécipitation	40
3.3.2. Immunoagglutination.....	47
Références bibliographiques	50

Deuxième partie Sécurité alimentaire

Chapitre 2

Bactéries pathogènes et toxines bactériennes (Patrice Arbault)	55
Introduction	55
1. Bactéries pathogènes et toxines bactériennes dans les industries agroalimentaires	56
1.1. Présentation	56
1.1.1. <i>Salmonella</i>	56
1.1.2. <i>Listeria</i>	57
1.1.3. <i>Campylobacter</i>	59
1.1.4. <i>Escherichia coli</i> O157:H7	60
1.1.5. <i>Staphylococcus</i> et entérotoxines de staphylocoque	61
1.2. Données épidémiologiques	62
1.2.1. La France	62
1.2.2. L'Europe	65
1.2.3. Le reste du monde	66
1.3. Législation et sécurité alimentaire	66
2. Méthodes de détection des bactéries pathogènes dans les aliments	68
2.1. Méthodes classiques	68
2.1.1. Définition	68
2.1.2. Normes	68
2.1.3. Exemples de méthodes classiques	69
2.1.4. Limites des méthodes classiques par rapport aux contraintes industrielles	73
2.2. Méthodes alternatives	77
2.2.1. Définition	77
2.2.2. Types d'immunométhodes destinées à la détection des pathogènes alimentaires	80
3. Techniques immunochimiques appliquées à la détection des bactéries pathogènes et des toxines	89
3.1. Applications de l'immunocapture	90
3.1.1. Cas d' <i>Escherichia coli</i> O157 et autres STEC	90
3.1.2. Cas de <i>Salmonella</i>	95
3.1.3. Autres applications	96
3.2. Applications courantes des immunodosages	97
3.2.1. Détection des salmonelles	97
3.2.2. Détection des <i>Listeria</i>	102
3.2.3. Détection des <i>Escherichia coli</i> vérotoxino-gènes	104
3.2.4. Cas des entérotoxines de staphylocoque	107
3.3. Immunoaffinité – Cas des entérotoxines de staphylocoque	111
Conclusions	114
Remerciements	115
Références bibliographiques	115

Chapitre 3

Mycotoxines (Patrice Arbault)	123
Introduction	123
1. Présentation des principales mycotoxines recherchées en contrôle alimentaire	124
1.1. Aflatoxines	124
1.2. Ochratoxine A	126
1.3. Désoxynivalénol	129
1.4. Autres mycotoxines d'intérêt pour l'analyse en agroalimentaire	131
1.4.1. Fumonisine B1	131
1.4.2. Zéaralénone	132
2. Méthodes analytiques de détection et de quantification des mycotoxines	133
2.1. Échantillonnage	133
2.2. Préparation d'échantillon	133
2.3. Techniques chromatographiques	134
2.3.1. Chromatographie en couche mince (CCM)	134
2.3.2. Chromatographie liquide haute performance (CLHP)	134
2.3.3. Chromatographie gazeuse (CG)	135
3. Immunométhodes pour l'analyse des mycotoxines	135
3.1. Production d'anticorps anti-mycotoxines	135
3.2. Tests immunoenzymatiques pour la détection des mycotoxines	136
3.2.1. Plaques de 96 puits ou microplaques	138
3.2.2. Tests immunochromatographiques	143
3.2.3. Tests membranes	147
3.3. Colonnes d'immunoaffinité	149
3.3.1. Principe des colonnes d'immunoaffinité (IAC)	150
3.3.2. Applications des colonnes d'immunoaffinité	151
3.4. Autres technologies analytiques utilisant les anticorps pour la recherche des mycotoxines	153
3.4.1. Test immunologique par polarisation de fluorescence	153
3.4.2. Électrophorèse capillaire et immunofluorescence	154
3.5. Validation des immunométhodes	155
3.5.1. Tests immunologiques de format ELISA	155
3.5.2. Colonnes d'immunoaffinité	156
3.5.3. Essais d'aptitudes interlaboratoires	157
Conclusions	158
Remerciements	158
Références bibliographiques	158

Chapitre 4

Problèmes posés par la détection des allergènes des aliments

(Jean-Michel Wal)	165
Introduction	165
1. Mécanismes physiopathologiques de l'allergie alimentaire	166
2. Facteurs de l'allergénicité d'un constituant alimentaire	167
3. Relations entre la structure de certaines protéines alimentaires et leur allergénicité	169
4. Stratégies pour la détection d'allergènes alimentaires	170

5. Exemple concret – La recherche d'allergènes du lait	171
Conclusion	173
Références bibliographiques	173

Chapitre 5

Déclaration des ingrédients allergènes dans les produits alimentaires – Techniques d'immunoanalyse au service d'une réglementation en évolution

(Samuel Ben Rejeb) 177

Introduction	177
1. Réglementations régissant la déclaration des allergènes dans les aliments	178
1.1. En Europe	178
1.2. Au Canada	178
2. Méthodes de détection de marqueurs d'allergènes alimentaires	179
2.1. Critères de développement et d'utilisation de méthodes d'analyse des allergènes alimentaires	180
2.2. Méthodes de détermination des allergènes par test immunoenzymatique (ELISA)	182
2.3. Application aux matrices alimentaires cibles	182
3. Exemple de développement et de mise en œuvre d'un test immunoenzymatique indirect pour la détermination d'un marqueur d'allergènes dans les aliments – Détection de marqueurs de noisettes	185
3.1. Solutions protéiques de référence et anticorps spécifiques	185
3.2. Courbes d'étalonnage – Détermination des conditions d'utilisation du test ELISA compétitif	186
3.3. Application aux matrices alimentaires cibles	188
4. Défis de l'utilisation de méthodes immunoenzymatiques permettant la détection de marqueurs d'allergènes dans les aliments, dans un cadre réglementaire	190
Conclusions	192
Références bibliographiques	193

Chapitre 6

Hormones (Philippe Delahaut) 197

Introduction	197
1. Aspects législatifs	198
2. Molécules utilisées	198
2.1. Œstrogènes	199
2.2. Androgènes	201
2.3. Progestagènes	201
2.4. β -agonistes	203
2.5. Glucocorticostéroïdes	203
3. Méthodes analytiques	203
3.1. Généralités	203
3.2. Principaux éléments du dosage immunologique	205
3.2.1. Anticorps	205
3.2.2. Format des dosages	206
3.2.3. Validation	206

4. Méthodes immunologiques pour les différents groupes	207
4.1. Hormones naturelles	207
4.2. Stilbènes	210
4.3. Androgènes, œstrogènes et progestagènes de synthèses	212
4.4. β -agonistes	214
4.5. Glucocorticostéroïdes	214
5. Préparation d'échantillons par chromatographie d'immunoaffinité	215
6. Nouveaux développements	217
6.1. Récepteurs	217
6.2. Tests sur site	217
6.3. Biocapteurs	218
Conclusions	218
Références bibliographiques	219

Chapitre 7

Prions (Jacques Grassi)	221
1. Encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles ou maladies à prions	221
1.1. Un groupe de maladies neurodégénératives transmissibles aux caractéristiques bien particulières	221
1.2. La maladie de la vache folle et ses conséquences pour la santé humaine et les IAA	224
2. Méthodes conventionnelles de diagnostic	226
2.1. Techniques histologiques et immunohistologiques	226
2.2. Tests d'infection expérimentale	227
2.3. Techniques d'immunoempreinte (Western blot)	227
3. Tests rapides de diagnostic <i>post mortem</i> des ESST	228
3.1. Caractéristiques générales des tests rapides	228
3.2. Première campagne de validation européenne de 1999	229
3.3. Deuxième campagne de validation européenne de 2001	233
3.4. Utilisation des tests rapides dans le cadre d'études épidémiologiques et de tests systématiques à l'abattoir	236
4. Vers des tests <i>ante mortem</i> et précliniques	237
4.1. Les défis d'un test sanguin – De nouvelles pistes	237
5. Détection des prions dans les produits finis de l'industrie agroalimentaire et dans l'environnement	239
Références bibliographiques	241

*Troisième partie***Qualité d'origine – Traçabilité – Qualité technologique
des matières premières***Chapitre 8*

Lait (<i>Didier Leveux</i>)	247
Introduction	247
1. Analyse de la composition du lait	248
1.1. Dosage des composants protéiques majeurs	248
1.1.1. Variations physiologiques	250
1.1.2. Évolution lors de mammites	252
1.2. Dosage des composants protéiques mineurs	252
2. Détection des adultérations	253
2.1. Dosage des IgG pour la détection de la présence de colostrum	253
2.2. Détection des mélanges de laits d'espèces différentes	254
2.3. Détection des enzymes utilisées pour la coagulation du lait	256
3. Transformation des protéines laitières lors des procédés industriels	257
3.1. Traitements par la chaleur	257
3.1.1. Détermination de l'intensité du traitement thermique	257
3.1.2. Recherche de protéines laitières dans les aliments chauffés	260
3.1.3. Lactosylation (glycation)	260
3.2. Protéolyse	260
3.2.1. Protéolyse des caséines au cours de l'affinage	260
3.2.2. Protéolyse pour la réduction de l'allergénicité des protéines laitières	261
4. Étude des propriétés émulsifiantes des protéines du lait	263
5. Étude des changements de structure des protéines laitières lors de traitements chimiques	264
Conclusion	265
Références bibliographiques	265

Chapitre 9

Viandes (<i>Claude Demeulemester et Inès Giovannacci</i>)	273
Introduction	273
1. Matières premières	274
1.1. Tendreté de la viande	274
1.1.1. Polymorphisme des chaînes lourdes de la myosine	274
1.1.2. Caractérisation de la protéolyse de la troponine	277
1.2. Défauts d'odeur	277
2. Produits finis	280
2.1. Identification des espèces animales	280
2.1.1. Principes généraux	280
2.1.2. Étude réalisée sur 40 conserves	281
2.2. Contrôle de la cuisson	284
2.3. Recherche de système nerveux central	285
3. Perspectives	287
Remerciements	288
Références bibliographiques	288

Chapitre 10

Céréales et dérivés (Michel Laurière et Sandra Denery)	293
Introduction	293
1. Importance économique des céréales	293
2. Particularités des protéines des céréales	294
3. Difficultés d'étude des céréales par les méthodes immunochimiques	295
4. Stratégies d'obtention et de mise en œuvre des anticorps	296
5. Évaluation de la qualité des blés	299
5.1. Qualité des semences	299
5.1.1. Germination sur pied, activité amylasique des grains	299
5.1.2. Identification des allèles et des chromosomes du blé	301
5.1.3. Translocations chromosomiques entre seigle et blé tendre	304
5.1.4. Sélection des blés tendres pour la dureté des grains	305
5.1.5. Sélection des blés durs pour la qualité des pâtes alimentaires	306
5.2. Qualité nutritionnelle et technologique des grains et des farines	307
5.2.1. Qualité nutritionnelle	307
5.2.2. Qualité boulangère des farines	308
6. Traçabilité	311
6.1. Dosage du gluten	311
6.1.1. Extraction quantitative des prolamines	312
6.1.2. Réactivité des anticorps vis-à-vis des prolamines	314
6.1.3. Choix du matériel de référence	315
6.1.4. Mise en œuvre commerciale des tests	316
6.2. Détection du blé tendre dans les lots de blé dur	317
7. Évaluation de la qualité de l'orge et du malt	318
7.1. Critères de qualité de l'orge et du malt	318
7.2. Détections des enzymes dans l'orge et le malt	318
7.2.1. (1 → 3, 1 → 4)-β-glucanases	318
7.2.2. β-amylases	319
7.2.3. Dextrinases limites	320
7.3. Caractérisation des polypeptides de la bière impliqués dans la qualité de la mousse	320
8. Perspectives	321
Conclusion	322
Références bibliographiques	323

Chapitre 11

Organismes génétiquement modifiés (Cécile Collonnier, André Kobilinsky et Yves Bertheau)	329
Introduction	329
1. Cadre réglementaire européen en matière d'OGM	330
1.1. Directive 2001/18/CE	330
1.1.1. Procédure d'autorisation de mise sur le marché des OGM	330
1.1.2. OGM autorisés	333
1.2. Règlement 1829/2003/CE	336
1.2.1. Procédure d'autorisation de mise sur le marché d'aliments GM	337

1.2.2. Étiquetage des aliments issus d'OGM	338
1.2.3. Aliments génétiquement modifiés autorisés	339
1.3. Règlements 1830/2003/CE et 65/2004/CE	342
2. Méthodes immunologiques de détection des OGM	343
2.1. Types de méthodes	344
2.1.1. ELISA	344
2.1.2. Tests immunochromatographiques	345
2.2. Cibles	346
2.3. Prélèvement d'un échantillon de base	348
2.4. Réponse qualitative	352
2.4.1. Types de méthodes utilisables	352
2.4.2. Contrôle de qualité par attribut	353
2.5. Réponse quantitative	357
2.5.1. Types de méthodes utilisables	357
2.5.2. Dosage quantitatif – Méthode de calibration	358
2.5.3. Obtention de la Δ_{DO}	360
2.5.4. Optimisation de la méthode ELISA par des plans d'expériences	362
3. Domaines d'application des méthodes immunologiques	365
3.1. Matrices	365
3.2. Avantages et limites des méthodes immunologiques	366
3.2.1. Avantages	366
3.2.2. Limites	366
4. Validation et normalisation des méthodes immunologiques	369
4.1. Validation	369
4.1.1. Principe	369
4.1.2. Méthodes immunologiques validées par des tests interlaboratoires	370
4.2. Normalisation	371
Conclusion	371
Références bibliographiques	372

Quatrième partie

Nouvelles générations de techniques immunochimiques

Chapitre 12

Immunocapteurs et immunopuces (Christophe Marquette et Loïc Blum)	377
1. Principes immunochimiques applicables aux immunocapteurs	378
1.1. Généralités	378
1.2. Format de tests	378
1.3. Aspects théoriques	379
1.4. Application en agroalimentaire	380
2. Immunocapteurs en phase homogène	381
3. Immunocapteurs en phase supportée	383
3.1. Basés sur des techniques chromatographiques	383
3.1.1. Détection électrochimique	383
3.1.2. Détection optique	384

3.2. Systèmes intégrés	385
3.2.1. Immunocapteurs à détection électrochimique	386
3.2.2. Immunocapteurs à détection massique – Capteurs piézoélectriques	387
3.2.3. Immunocapteurs à détection optique	387
4. Immunopuces	391
Conclusion	392
Références bibliographiques	393
 Conclusions (<i>Patrice Arbault et Jean Daussant</i>)	397
 Index	401