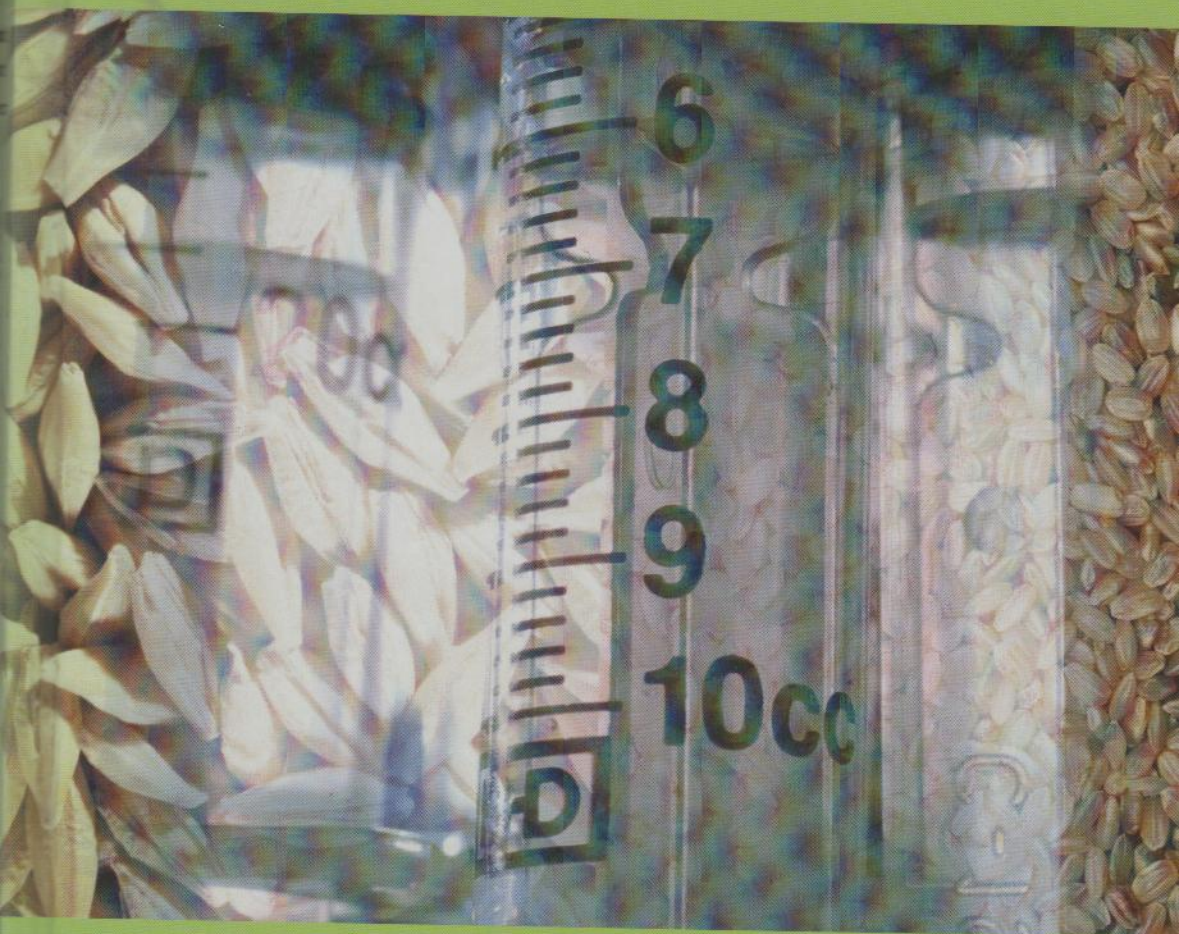




COLLECTION
SCIENCES & TECHNIQUES
AGROALIMENTAIRES

Patrice Arbault • Jean Daussant
coordonnateurs



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

Editions
TEC
& **DOC**

Lavoisier

Qualité et sécurité sont les deux mots clés de l'industrie agroalimentaire. Les méthodes immunochimiques reposent sur l'utilisation des anticorps pour la capture, la détection ou la purification des contaminants. Cet ouvrage fait le point sur leurs applications, permet leur mise en œuvre en IAA et envisage leurs avantages : **les immunométhodes se révèlent rapides, adaptables à l'automatisation et au traitement de grands nombres d'échantillons.**

Il dresse un bilan critique sur leur utilisation, au regard des limites technologiques, des moyens techniques des laboratoires, des besoins de formation pour le personnel, des attentes des industriels des IAA, des particularités des matrices alimentaires, des systèmes de certification.

Pragmatique, **illustré de cas concrets**, il décrit en 4 parties :

- les différents techniques d'analyse exploitant les anticorps ;
- leurs nombreuses applications :
 - en **sécurité alimentaire** : bactéries pathogènes, mycotoxines, allergènes, hormones, prions ;
 - en **qualité alimentaire** : lait, viandes, produits céréaliers, OGM ;
- les certifications, d'origine et de qualité (AFNOR, AOAC...), pour les produits entrants, finis ou les matières premières ;
- les perspectives de nouvelles techniques (immunocapteurs et immuhopuces).

Cet ouvrage est conçu pour :

- les ingénieurs et les industriels des IAA • les laboratoires d'analyse alimentaire • les sociétés de diagnostic agroalimentaire et vétérinaire
- les chercheurs • les enseignants et les étudiants en biochimie, biologie, agroalimentaire (IUT, BTS, universités, écoles d'ingénieurs).

Patrice Arbault, docteur ès sciences, est vice-président aux affaires techniques de Diffchamb SA (Lyon).

Jean Daussant, directeur de recherche honoraire du CNRS, est professeur à l'Institut de technologie chimique de Prague (République tchèque) et conseiller scientifique à l'Institut national agronomique Paris-Grignon.

2-7430-0760-5



9 782743 007607



Table des matières

Première partie

Techniques

Chapitre 1

Introduction aux techniques immunochimiques (Jean Daussant

et François-Xavier Desvaux)

3

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