

De quoi s'agit-il ?

La qualité sanitaire (dont la teneur en mycotoxines) des céréales est un des éléments essentiels pour leur commercialisation. La détermination des teneurs en mycotoxines d'un lot de grains est utile pour leur orientation.

Les techniques analytiques pour détecter et quantifier les champignons et leurs mycotoxines sont en constante évolution pour suivre voire anticiper les nouveaux seuils réglementaires.

On distingue les méthodes dites rapides que sont les tests bandelettes utilisées comme outils de tri à la récolte ; les méthodes de référence accréditées qui correspondent aux analyses officielles et les méthodes intermédiaires que sont les tests immuno-enzymatiques (Elisa).

Méthodes rapides

L'intérêt principal d'une méthode rapide est de pouvoir obtenir sur le terrain une indication sur la présence de mycotoxines par rapport à un certain seuil, voire une estimation de leur teneur, et de prendre ainsi une décision immédiate. Ce sont des outils utiles pour une première appréciation, mais qui nécessitent confirmation par les méthodes de référence dans des cas limites ou pour une analyse précise.

Les méthodes les plus répandues sont les tests immuno-chromatographiques, appelés plus couramment « tests bandelettes ».

Méthodes accréditées

Ces méthodes sont de type chromatographique (GC : chromatographie en phase gazeuse, LC : chromatographie liquide, HPLC : chromatographie liquide haute performance, UPLC : chromatographie liquide ultra performance, UFLC : chromatographie liquide ultra rapide) ou par ultraviolet ou fluorimétrie ou spectrométrie de masse.

Méthodes intermédiaires

Il s'agit là des tests immuno-enzymatiques (tests Elisa) qui sont plus rapides et moins onéreux que la chromatographie liquide et ses dérivés. Ils sont cependant moins sensibles : les limites de détection et de quantification étant bien plus élevées.

Par rapport aux tests bandelettes, les méthodes intermédiaires sont plus précises et quantitatives mais moins rapides, tout en demandant davantage de technicité.

Ces tests exigent un équipement de laboratoire, à la portée de nombreux organismes stockeurs.



Limite de détection ? Limite de quantification ?

La limite de détection est la limite ultime d'une méthode ou d'un instrument, qui peut servir de seuil pour la présence ou l'absence de la molécule recherchée.

La limite de quantification est la concentration à partir de laquelle on va pouvoir fournir un résultat fiable.

**Critères de choix du laboratoire :**

- Est accrédité selon la norme NF EN ISO 17025 pour la méthode et le couple mycotoxine/produit
- Communique les limites de détection et de quantification de la méthode
- Participe à un circuit d'inter-comparaison
- Respecte les exigences des règlements CE N°401/2006 ou 152/2009 (respect des critères de performance)
- Corrige le résultat d'analyse du taux de récupération

Méthodes émergentes

La détection rapide de plusieurs toxines constitue un créneau porteur pour les nouvelles technologies de détection de mycotoxines.

Des « tigeltes » immunochimiques permettent une détection rapide basée sur l'interaction entre les anticorps spécifiques immobilisés sur une bande de membrane et des récepteurs anticorps coatés.

**Que sont des aptamères ?**

Il s'agit d'oligonucléotides (ADN) ou (ARN) sélectionnés à partir d'une banque aléatoire de séquences selon leur aptitude à reconnaître une cible. Ces aptamères présentent des affinités et spécificités comparables à celles des anticorps pour des molécules variées comme les mycotoxines. Ils ont l'avantage d'être synthétisés chimiquement et ne nécessitent pas l'utilisation d'animaux.

Le test *enzyme-linked immuno filtration assay* (ELIFA) est un outil jetable basé sur l'utilisation d'une membrane au travers de laquelle l'écoulement est dirigé parallèlement, analogue à la chromatographie sur couche mince.

Des biodétecteurs immunochimiques qui utilisent la résonance plasmonique de surface ou des biocapteurs de surface d'électrode de carbone ont été décrits.

Enfin, les *enzyme-linked aptamer assays* (ELAA) basés sur les molécules aptamères ont été utilisés.

La spectroscopie infrarouge est une méthode de dépistage viable, comme la transmittance proche infrarouge.

Le tableau ci-après présente une comparaison des méthodes.

Méthodes	Avantages	Inconvénients
Chromatographie gazeuse	Analyses multimycotoxines Bonne sensibilité Automatisable (<i>auto sampler</i>) Confirmation (détecteur MS)	Équipement très coûteux Nécessité d'une expertise spéciale, Nécessité de dérivation Problèmes d'interférences matricielles Courbe de calibration non linéaire, Décalage des réponses <i>drifting</i> Effets résiduels (<i>carry-over</i>) provenant d'échantillons précédent Reproductibilité variable Répétabilité variable
Chromatographie liquide sous haute pression	Bonne sensibilité Bonne sélectivité, Bonne répétabilité Confirmation Automatisable (<i>auto sampler</i>) Courte durée d'analyse Méthodes officielles disponibles	Équipement très coûteux Nécessité d'une expertise spéciale Nécessité de dérivation Nécessite la purification de l'échantillon
Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS/MS)	Analyses multimycotoxines Bonne sélectivité Bonne sensibilité Confirmation Pas de dérivation Courte durée d'analyse Automatisable (<i>auto sampler</i>)	Très coûteux Nécessité d'une expertise spéciale, la sensibilité dépendant de la technique d'ionisation Effet matrice Standards internes nécessaires
<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i> (ELISA)	Simple préparation d'échantillon Équipements moins coûteux Sensibilité élevée Analyses simultanées d'échantillons Utilisation pour criblage Utilisation limitée de solvants organiques	Réactions croisées avec d'autres composés analogues Problèmes d'interférences matricielles Possibilité de faux positifs et/ou de faux négatifs Nécessité de confirmation par analyses LC
Tigettes <i>Lateral flow device/dipstick</i>	Rapide Pas de purification Pas d'équipement coûteux Facile à utiliser Pas de formation spécifique	Semi-quantitative (évaluation visuelle) Réactions croisées avec d'autres composés analogues Nécessité de validation pour des matrices additionnelles Nécessité de confirmation par analyses LC
<i>Fluorescence polarization immunoassay</i>	Rapide Pas de purification Méthode validée pour DON dans le blé	Réactions croisées avec d'autres composés analogues Problème d'interférences Nécessité de confirmation par analyses LC
Spectroscopie infrarouge (IR)	Rapide Mesures non destructives des analytes Pas d'extraction Pas de purification Opération facile	Équipements coûteux Nécessité de validation de modèle de calibration Connaissance des méthodes statistiques Faible sensibilité
Biodétecteurs (<i>Biosensors</i>)	Rapide Pas de purification	Réactions croisées avec d'autres composés analogues Nécessité de purification pour améliorer la sensibilité Reproductibilité et répétabilité variables

Huybrechts et al.

Pour en savoir plus

- Huybrechts et al., 2013. Méthodes analytiques de détermination des mycotoxines dans les produits agricoles : une revue. Cahiers Agricultures, 22, 202-215.
- Derrien et Bayouduh, 2008. Huybrechts et al., 2013. Polymères à empreintes moléculaires, intérêt et applications pour l'analyse. Spectra Analyse, 260, 30-34.
- Rapid Methods for Mycotoxin Detection. World Mycotoxin Journal., Editor: Hans P. van Egmond. 2014, vol.7, 4.