

APPLICATIONS DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE A L'INDUSTRIE LAITIERE

(Résumé de l'intervention de M. BRANGER - ENILBIO Poligny -

lors de l'Assemblée Générale de CECALAIT

Des possibilités nouvelles pour la détection de flores spécifiques.

Les techniques de biologie moléculaire utilisent des marqueurs génomiques et accèdent ainsi au niveau de spécificité le plus fin, qui permet, par exemple, à l'intérieur d'une même espèce de distinguer les souches réellement pathogènes, des autres.

NB

Acides nucléiques :

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN : acide ribonucléique

ARNm : ARN messenger

ARNr : ARN ribosomal

PCR : polymerase chain reaction

multiplier la quantité d'acide nucléique détectable. Dans le deuxième cas, cette amplification s'est déjà faite naturellement puisque de multiples copies d'ARN sont présentes dans la cellule.

Après dissociation (dans certaines conditions de température ou de force ionique) des deux brins constituant les acides nucléiques, on cherchera à repérer la cible par hybridation (réassociation) avec une sonde nucléique, complémentaire de la cible recherchée. La sonde aura été synthétisée au préalable (synthétiseur d'oligonucléotides), multipliée et marquée par un isotope radioactif, par des antigènes susceptibles de donner des réactions colorées ou fluorescentes, ou par des réactifs bioluminescents... Un grand nombre de sondes sont déjà disponibles dans le commerce.

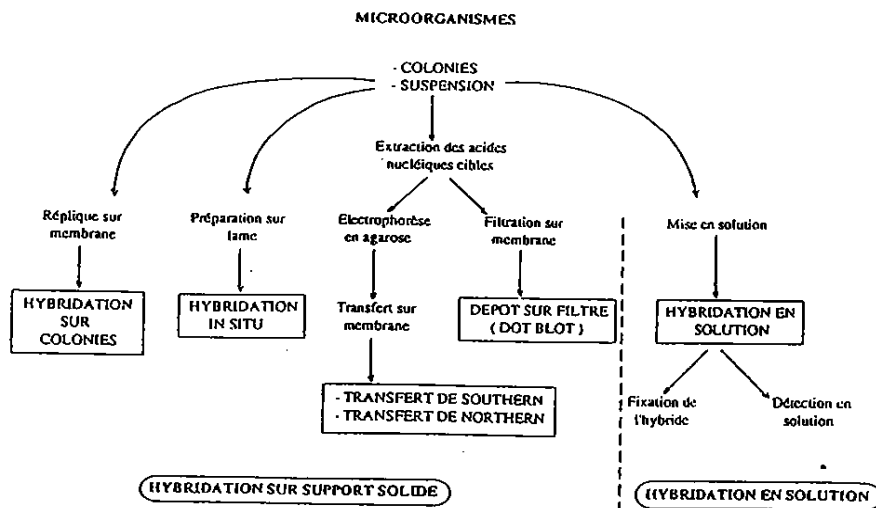
PRINCIPE

Dans ces techniques, il s'agit de cibler un gène spécifique, soit au niveau de l'ADN, soit au niveau de l'ARN. Dans le premier cas, une amplification ultérieure par PCR sera nécessaire pour

HYBRIDATION

La Figure 1 schématise les différentes techniques d'hybridation actuelles.

figure 1



Les techniques d'hybridation sur support solide sont d'un principe plus simple - en particulier pour la détection des produits hybridés -, mais nécessitent un grand nombre de manipulations assez délicates. Elles sont donc pour l'heure difficiles à automatiser et sont du domaine des laboratoires de recherche.

L'hybridation en solution est en revanche plus facilement automatisable et plus susceptible d'être utilisée en routine. C'est sur ce principe que reposent les kits de détection de *Listeria monocytogenes*, Gene-Trak™ et Gen-Probe™, dont la validation AFNOR est en cours.

Des tests d'avenir...

Le tableau 1, ci-dessous, compare les différents types de détection microbienne : microbiologie "classique", techniques immunologiques, techniques de biologie moléculaire. Il montre nettement les avantages de ces dernières, à savoir leur spécificité, leur sensibilité et leur rapidité.

Cependant leurs limitations apparaissent également. Elles concernent essentiellement :

* la détection de toxines; si les bactéries productrices les ont libérées dans les échantillons mais sont mortes, un test trop peu sensible sera négatif,

* la possible détection, par des tests très sensibles, d'ADN

provenant de bactéries mortes,

* la présence dans les aliments, d'agents inhibiteurs des réactions mises en jeu.

Tableau 1

	Détection de bactéries		Détection de toxines	Rapidité	Spécificité	Sensibilité	Possibilités d'amplification	Inhibitions
	Vi-vantes	Mor-tes						
Biologie moléculaire	+	+	- (sauf par gènes libres en solution)	+	+++	+	rapide par PCR	Par protéines et sels
Microbiologie classique	+	-	+ techniques particulière	-	+ --	-	par culture (lent)	Par flore secondaire
Sérologie	+	+ ou -	+ seulement les protéines	+	+	-	par culture (lent)	Par protéines

comparaison de trois types de techniques de détection microbienne.

La présence d'inhibiteurs et les prises d'essai très faibles utilisées dans ces tests interdisent, de fait, l'utilisation en direct des tests génétiques dans les aliments. Une étape de mise en culture de l'échantillon est nécessaire.

Il n'en reste pas moins que ces tests semblent appelés à remplacer avantageusement certains tests traditionnels, y compris au niveau industriel.