



Orge et fusariums producteurs de toxines

Développement et application de la PCR, outil biomoléculaire, pour évaluer la qualité sanitaire des céréales : nos résultats sur l'orge

Régis Fournier* et Patrick Boivin*

On sait que les champignons du genre *Fusarium* responsables de fusarioses des épis sur les céréales sont potentiellement producteurs de mycotoxines dites fusariotoxines, notamment de trichothécènes. Et aussi que toutes les espèces du genre ne se valent pas. Certaines produisent plutôt tel ou tel type de trichothécène, certaines sont plutôt inféodées à telle ou telle céréale... Il est utile d'identifier ces *Fusarium*, c'est-à-dire les déceler et différencier chaque espèce, mais aussi de quantifier chacune, au champ puis durant le stockage des grains. Nous expliquerons ici pourquoi et comment avec les méthodes d'identification visuelle (pratiquée à l'IFBM depuis 2003), et de PCR (outil biomoléculaire désormais quantitatif). Sans oublier d'informer sur l'évolution des *Fusarium* sur orge de brasserie.

* Institut français de la brasserie et de la malterie, Vandœuvre-lès-Nancy, regis.fournier@ifbm-qualtech.com.

Photo en médaillon : ces boîtes de Petri contiennent des souches de *Fusarium* sp. cultivées pour les identifier visuellement. L'IFBM utilise une méthode officielle.

Au cours des huit dernières années, l'Institut français de la brasserie et de la malterie (IFBM) a mis en oeuvre un observatoire systématique de la présence sur les orges de brasserie françaises des espèces de *Fusarium*. Chaque année, environ 200 échantillons représentatifs de l'ensemble des surfaces cultivées sur le territoire sont caractérisés.

Identification visuelle des espèces de *Fusarium* : la méthode

La première méthode de détection et d'identification des espèces de *Fusarium* spp et *Microdochium nivale* sur grains de céréales est dite « visuelle ».

La méthode, décrite sur la figure 1, est référencée : « MH.02-16-vb Toutes céréales, Détection et identification des espèces de *Fusarium* spp. et *Microdochium nivale* sur grains de céréales par isolement mycologique semi-sélectif et étude microbiologique ». Elle consiste d'abord à isoler les souches (c'est l'« isolement mycologique

semi-sélectif ») puis à identifier les isolats après culture sur deux milieux sélectifs (« étude microbiologique »). Tous les isolats sont identifiés selon les descriptions de Nelson et coll. (Nelson et autres, 1983).

Ce type d'analyse permet d'identifier chacune des espèces de *Fusarium* isolées mais aussi d'évaluer la proportion de contamination par chacune, autrement dit de les quantifier.

Ce qu'elle nous a appris

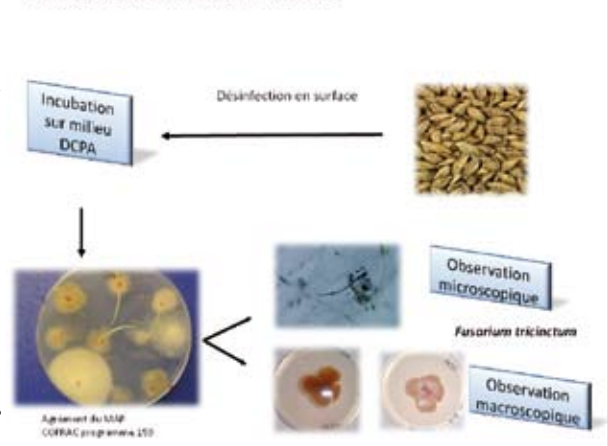
Évolution depuis 2003 : producteurs de TCT B...

Les observations réalisées depuis 2003 (Fournier *et al.*, 2003, 2005, 2009 ; Boivin et Benismail, 2005) ont mis en évidence une diminution de la présence des *Fusarium* producteurs de trichothécènes de type B ou TCT B (déoxynivalénol, nivalénol...), traditionnellement observés sur les céréales à petits grains (*F. graminearum* et *F. culmorum*), de 2003 à 2005, puis leur stabilisation en 2005 (Noel *et al.*, 2004).

Fusarium graminearum, principal producteur de TCT B, a opéré un retour sur les orges de

Figure 1 - Les analyses visuelles sont réalisées sur un lot de grains. Après plusieurs cycles d'homogénéisation/réduction de l'échantillon, 100 grains sont déposés sur DCPA. La pression qu'apporte ce milieu favorise l'émergence des *Fusarium*. Certaines espèces peuvent être identifiées à ce stade. Les thalles non identifiés sont repiqués sur SNA et PDA, et les caractéristiques de croissance et des conidies sont évaluées. L'utilisation d'une clé dichotomique permet dès lors d'identifier les espèces. L'identification est réalisée selon la méthode officielle MH.02-16-vb.

Outils d'identification visuelle





ph. Qualitec

brasserie françaises en 2008 et 2009.

Fusarium culmorum, quant à lui, est présent en général à un niveau très bas et ne semble pas avoir une affinité élevée pour ces orges de brasserie.

Globalement, les quantités d'espèces productrices de TCT B ont diminué ces dernières années.

... Producteurs de TCT A...

Cette observation doit être mise en parallèle avec l'augmentation des échantillons contaminés par les espèces productrices de trichothécènes de type A, ou TCT A (toxines T2 et HT2) que sont *F. langsethiae* et *F. sporotrichioides*.

En effet, un changement de l'équilibre des populations s'est produit en France. Observé la première fois en 2003, il a été confirmé par le suivi des récoltes jusqu'en 2009. Les observations visuelles ont permis de mettre en évidence une augmentation des souches de *F. langsethiae* et plus récemment de *F. sporotrichioides*, caractérisée comme principal productrice de TCT A dans les pays nordiques. En 2008 et 2009, bien que *F. langsethiae* ait été décrite sur les orges, la présence de *F. sporotrichioides* a été mise en évidence.

Les souches isolées au début de la décennie ne présentaient pas un potentiel important de production de TCT A, cette caractéristique étant alors réservée à *F. langsethiae*. Ensuite, la caractérisation du potentiel toxigène des souches de *F. sporotrichioides* isolées ces deux dernières années a montré que ces isolats sont très fortement producteurs de toxines T2 et HT2.

Même si la population de *F. poae* est stable et celle de *F. sporotrichioides* rare, la contamination globale par des producteurs de TCT A s'est accrue.

... et non producteurs de trichothécènes

Deux autres espèces sont majoritairement présentes sur orge. Il s'agit de *F. avenaceum* et de *F. tricinctum*, qui ne sont pas des producteurs de trichothécènes. Leur population reste stable et prédominante.

Analyse par PCR (Polymerase Chain Reaction). Elle permet de détecter, même après un long stockage des échantillons, les souches de *Fusarium* qui étaient présentes au champ.

Ces espèces peuvent toutes les deux produire d'autres types de mycotoxines, appartenant aux familles des enniatines et de la beauvéricine.

L'identification visuelle, limites et atouts

Elle ne décèle pas les souches mortes

Mais l'identification visuelle de *Fusarium* après isolement et croissance sur milieu sélectif ne peut que traduire la présence de souches vivantes lors de l'analyse. Or il existe une mortalité des souches au cours du stockage. Ce phénomène de disparition de la viabilité des souches a été observé à plusieurs reprises avec un nombre d'isolats issus des grains qui diminue dans le temps.

Une analyse visuelle par isolement peut donc présenter un biais. En effet, l'absence d'un *Fusarium* vivant à un instant donné ne signifie nullement qu'il n'a pas été présent auparavant. Le genre *Fusarium* appartient à un groupe traditionnellement décrit comme « moisissures de champ » (en opposition aux moisissures de stockage). Il rencontre des conditions de croissance favorables (humidité, température, interactions avec la plante hôte) au cours de la croissance de la plante, avant la récolte. Il y produit des mycotoxines qui resteront présentes dans le lot de grains après la mort des souches productrices.

... mais les survivantes pouvant produire de nouvelles toxines au maltage

En revanche l'identification visuelle révèle les souches ayant conservé leur potentiel de revivification et qui peuvent développer lors du maltage de l'orge.

Ce maltage est un procédé en 3 étapes (imbibition des grains, germination et séchage par pallier de température). La germination est une étape critique, car les grains sont incubés

pendant une durée de 5 jours à un taux d'humidité (40-44 %) et de température (16-20 °C) favorables à la reprise de croissances des tissus mycéliens et des spores. Il a été montré qu'une reprise de croissance de l'ensemble des espèces du genre *Fusarium* est possible, impliquant une possible production de toxines supplémentaires au cours du maltage.

Identification par PCR : la méthode

Pourquoi ? Parce que l'ADN est spécifique et stable

L'ADN est une molécule située au cœur de la cellule, dans son noyau. La séquence de l'ADN, caractéristique de chacune des espèces de *Fusarium*, présente l'avantage d'être très résistante et d'exister toujours en conditions de faible humidité telles que celles du grain, même des années après la mort de l'organisme.

L'utilisation de la PCR (Polymerase Chain Reaction ou réaction de polymérisation en chaîne) à l'aide d'amorces d'amplification (auparavant validées en termes de spécificité d'amplification vis-à-vis d'une espèce) permet d'identifier avec une très grande certitude l'ADN d'une souche, donc son appartenance à une espèce donnée, et ceci même si la souche est morte.

Analyser même après stockage

Ainsi l'utilisation de la PCR permet de caractériser la présence de ces espèces même longtemps après la mort des tissus. Il est ainsi possible de réaliser l'analyse et la cartographie, d'une récolte même après une voire plusieurs années de stockage.

Par ailleurs, même quand ces souches sont mortes, les mycotoxines qu'elles ont pu produire, très stables, perdurent encore.

Comment ? Rappel

On le sait, la PCR est une technique imitant *in vitro*, la duplication de l'ADN, étape essentielle et préalable à la duplication cellulaire. L'utilisation d'une enzyme spécifique, ADN-polymérase ADN-dépendante thermostable, permet de reproduire la réaction enzymatique cellulaire de réplication de l'ADN. Cette réaction de duplication de segment du génome spécifique d'un organisme (une espèce, par exemple) est répétée dans un thermocycleur approximativement quarante fois. On peut déterminer directement l'appartenance d'un isolat à une espèce par l'intermédiaire des amorces utilisées.

Ainsi, en utilisant des amorces de polymérisation spécifiques à l'une ou l'autre espèce, il est possible d'identifier cette espèce dans un mélange d'ADN de composition complexe.

Sept amorces pour des espèces et d'autres pour des mycotoxines

Nous avons réalisé les identifications par PCR de *F. graminearum*, de *F. avenaceum* et de *F. langsethiae* avec des amorces dérivées des

séquences publiées par respectivement Schilling *et al.* (1996) Turner *et al.* (1998) et Wilson *et al.* (2004). Pour les autres espèces, *F. culmorum*, *sporotrichioides*, *poae* et *tricinctum*, des amorces spécifiques ont été développées par le laboratoire de biologie moléculaire de l'IFBM (Fournier *et al.*, 2005).

L'analyse PCR des mêmes échantillons a également été réalisée avec des amorces spécifiques à une voie de biosynthèse de mycotoxines (par exemple pouvant détecter en même temps et dans la même réaction toutes les espèces produisant l'un ou autre type de trichothécènes, indépendamment de la notion d'espèce). Les étapes de l'analyse d'un échantillon par PCR sont décrites dans la figure 2.

Amplification et quantification

L'utilisation de conditions d'amplification avec établissement de la cinétique d'amplification en temps réel permet de quantifier l'ADN des espèces (Figure 3).

Résultats obtenus

Des confirmations

Certains résultats obtenus ont confirmé les résultats de l'identification visuelle. En effet, le nombre d'échantillons contenant l'ADN du groupe de biosynthèse de TCT A a augmenté au cours des dernières années tandis que le nombre de ceux contenant l'ADN du groupe de biosynthèse des TCT B a diminué nettement montrant une diminution lente de ces producteurs. Dans le même temps, la population de *F. tricinctum* est restée stable alors que celle de *F. avenaceum* diminuait beaucoup.

Mais des différences

Nous avons pu observer que la quantité d'échantillons contenant l'ADN des *F. poae*, *langsethiae* et *sporotrichioides* a atteint une proportion de presque 30 %. Cette valeur est beaucoup plus haute que celle obtenue après l'analyse visuelle. Ceci confirme ce qui a été précédemment observé, à savoir qu'une forte proportion des souches infectant les grains per-

Figure 2 - L'ADN total d'une matrice végétale (ici, l'orge de brasserie) est extrait et dosé. L'amplification est réalisée avec des amorces spécifiques d'une séquence de l'espèce recherchée. Dans le cas de la détection, la révélation de la présence des fragments d'amplification est réalisée par séparation électrophorétique des fragments en gel d'agarose. Dans le cas de la PCR quantitative, la cinétique d'amplification est établie par mesure de la quantité de fragments générés et comparée à la cinétique d'amplification de fragments en quantité connue et contrôlée (standard de concentration).

Outils d'identification par PCR

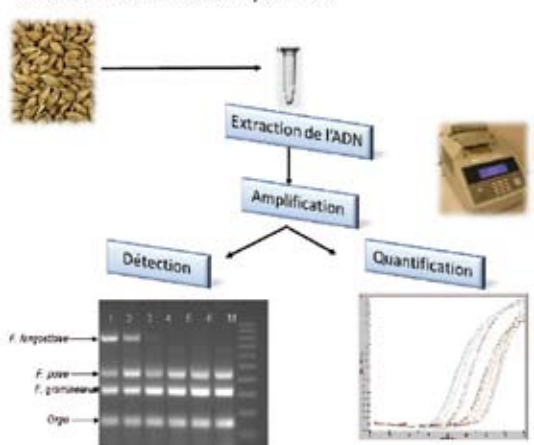
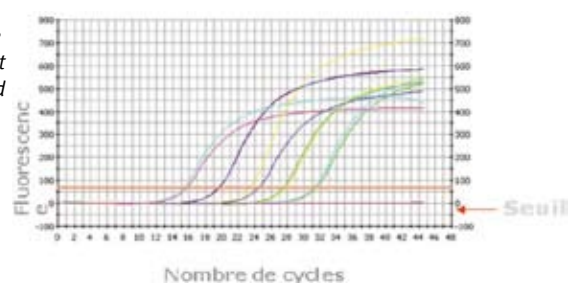


Figure 3 - Cinétiques d'amplification établie par mesure de la fluorescence en temps réel. À chaque cycle, la fluorescence, directement proportionnelle à la quantité d'ADN spécifique présent dans le tube est mesurée. Un standard « nombre de séquences cibles » est établi simultanément, qui permet de déduire le nombre de séquences cibles présentes dans un échantillon inconnu, dès lors que la mesure de fluorescence dépasse un seuil significatif.



dent leur capacité à se développer après une certaine durée de stockage. L'observation nous conduit à conclure que cette perte de capacité semble différer selon les espèces.

Il est important de répéter que la capacité des souches de *Fusarium* à se développer après la récolte est une menace pour le maltage, en raison de ses étapes humides qui permettraient aux moisissures de croître et de re-contaminer les matières premières pendant le procédé de maltage. Néanmoins, les mycotoxines produites lors de la contamination au champ étant résistantes aux conditions techniques du processus (par exemple la chaleur ou pression),

elles peuvent être présentes dans les produits finis et peu d'élimination a été observée du fait des procédés de transformation.

Des connaissances utiles

La France est un pays important pour l'exportation d'orge à malter. Le développement de stratégies efficaces de contrôle des procédés de maltage exige de disposer d'une bonne connaissance des espèces réellement impliquées mais surtout de l'équilibre et la dynamique des populations de *Fusarium* aussi bien que de la variation de la production de mycotoxines parmi les espèces de *Fusarium*.

L'orbite des services homologation

www.gab-consult.de

- Biocides
- Micro-organismes
- Additifs dans l'alimentation animale
- Chimiques (REACH)
- Renforteurs des plantes
- Produits phytopharmaceutiques
- Extraits de plantes
- Adjuvants
- Médicaments vétérinaires



GAB Consulting GmbH
Lamstedt – Germany

GAB Consulting GmbH
Heidelberg – Germany

GAB Consulting GmbH
Paris – France

GAB Consulting Agrociencias S.L.
Valencia – Spain

GAB Consultancy Partnerships
Roma – Italy
Athens – Greece
Sofia – Bulgaria

Service de conseil spécialisé en Autorisation de Mise sur le Marché national et l'homologation en Europe des préparations et ses substances actives

- Dossier PPP (Annexes II et III, de la directive européenne 91/414/CCE)
- Annexe III en format dRR (draft Registration Report)
- Considération du règlement 1107/2009/CE
- Dossiers biocides (Directive 98/8/CE)
- REACH
- Classification et étiquetage (règlement 1272/2008/CE)
- Coordination des projets et évaluation des données
- Évaluation du risque toxicologique et environnemental
- Conduction et surveillance des études
- Préparation des dossiers électroniques
- Format CADDY
- IUCLID 5

GAB Consulting GmbH France

179, rue du Faubourg St-Antoine
75011 Paris
Téléphone : +33 (0) 143 43 29 12
Email : sabrina.gaertner@gab-consult.de

Application de la PCR : répartition des contaminations sur la récolte 2009 et projets 2010

Un échantillon d'orge à sa sortie du champ est contaminé par une myriade de micro-organismes. Ne considérons que la contamination fusarienne et les espèces de *Fusarium* prévalentes chez les orges de brasserie, telles que nous les avons définies lors des observatoires des années précédentes.

2009 et les sept couples d'amorce

2009 est la première année pour laquelle l'ensemble des échantillons reçus à l'IFBM a été analysé avec les 7 couples d'amorces *Fusarium* spp. En effet, la validation de l'utilisation en PCR quantitative pour les espèces *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum* et *F. avenaceum* a été réalisée cette année-là. Les résultats des mesures réalisées sont repris tableau 1.

La masse fongique propre à chacune des espèces et mesurée par PCR quantitative n'est pas un indicateur de la contamination en mycotoxine. En effet, bien que pour certaines (DON notamment), il ait été établi une relation entre quantité d'ADN et mycotoxine, la mesure par PCR ne quantifie que l'ADN. La relation masse fongique/mycotoxines dépend d'autre

facteurs tels que les conditions pédo-climatiques et la contamination par chacune des espèces donc la compétition existant au sein de la communauté fongique locale. En revanche ces mesures sont utiles dans le sens où une contamination peut être surveillée rapidement et surtout suivie dans le temps.

À titre d'exemple, il a été possible de réaliser des suivis au cours du maltage, des différentes espèces individuellement et de surveiller leur comportement au cours de la germination de l'orge. Toutes les espèces présentes, bien que présentant une reprise de croissance, ne présentent pas la même dynamique et la reprise de croissance ne se fait pas au même taux, ni après le même temps de latence.

La répartition des différentes espèces est très hétérogène et aucune relation de présence dépendante d'une autre espèce n'a pour le moment été montrée. Les valeurs obtenues, notamment la médiane des valeurs mesurées, montrent un parallèle avec les observations visuelles réalisées jusque là, essentiellement sur la répartition des espèces. *F. tricinctum* est majoritairement présent et une grande pro-

portion d'échantillons contient l'ADN de cette espèce en grande quantité. *F. langsethiae* et *sporotrichioides*, producteurs de trichothécènes de type A, ne sont pas le contaminant majeur, bien que la quasi-totalité des échantillons présente une contamination en toxines T2 et HT2. La présence de *F. graminearum*, très visible, est parfaitement cohérente avec les observatoires visuels ayant montré en 2008 et 2009 une recrudescence de cette espèce dans les orges de brasserie, mise en parallèle avec l'augmentation de l'incidence de la DON.

À compter de 2010

À compter de 2010, les mesures sont réalisées systématiquement sur les échantillons des observatoires commerciaux des orges de brasserie.

Au champ, la PCR quantitative permet de suivre l'implantation d'une espèce sur la plante hôte. Il a déjà été montré par cet outil que l'apparition de l'ADN de *F. langsethiae* est parallèle à celle des symptômes petits grains noirs.

On peut aussi réaliser des suivis sur plusieurs espèces pour déterminer les espèces en présence avec leur ordre d'apparition et d'évaluer la compétition entre souches, non seulement pour l'envahissement du milieu mais encore suite à l'application de paramètres tels que les fongicides, les pratiques culturales, le stade physiologique du développement de la plante ou bien le climat.

Dans le cas du maltage, la technique permet de réaliser le même type de suivis individuels. De plus, bien que certaines espèces de *Fusarium* présentent une affinité plus importante pour des plantes hôtes spécifiques, la plupart des espèces peuvent être détectables et quantifiable sur toutes les céréales de grandes cultures. Cette méthode est donc applicable à toute espèce végétale, transformée ou pas.

Tableau 1 - Résultats des mesures réalisées sur l'ensemble des échantillons.

	<i>F. langsethiae</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. poae</i>	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. tricinctum</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. sporotrichioides</i>
N =	367	367	367	267	267	367	267
Moyenne	80	2 825	30	61	10 213	180	218
Écart type	210	6 741	57	132	34 726	560	623
Médiane	26	356	8	30	2 593	20	50
RSRR	264	239	193	218	340	311	285
min	0	0	0	0	0	0	0
max	2 231	52 740	354	1 372	323 200	4 427	5 548

La quantité de chacune des espèces est donnée en génomes (et donc équivalent massique) de l'espèce considérée dans un contexte constant de 2500 génomes d'orge. N = nombre d'échantillon dans lequel la mesure a été effectuée. RSDR = écart type relatif. Min = valeur minimale mesurée. Max = valeur maximale mesurée.

Spécificité vérifiée

La spécificité génomique des amorces permettant de détecter les 7 espèces majoritaires de *Fusarium* retrouvées et détectées sur les orges de brasserie au cours des observatoires réalisés ont été validées sur un ensemble de 21 espèces de *Fusarium* référence, ainsi que sur la diversité de la sphère mycologique afférente à cette culture. En effet, un certain nombre de moisissures des genres *Penicillium* et *Aspergillus* (considérées comme des moisissures de stockage) et *Alternaria* (une autre espèce dite de champ) sont retrouvées à différents niveaux de contamination sur les orges (et sur l'ensemble des céréales de grandes cultures).

La sensibilité de la méthode de détection par PCR étant très forte (l'amplification peut mettre en évidence la présence d'une seule

molécule d'ADN, témoin de la présence d'une seule cellule fongique), il convient de s'assurer de la spécificité des amorces sur une fraction la plus exhaustive possible de la population contaminante. En plus de la population fongique, la spécificité des amorces développée a été vérifiée sur l'ADN des plantes hôtes, essentiellement les céréales de grandes cultures, notamment l'orge.

Volet quantitatif

Pour chacune des amorces, un processus de développement et de validation des amplifications a été mis au point permettant de les utiliser en PCR quantitative. Cette technique permet, par établissement de la cinétique d'apparition des séquences amplifiées, de déterminer le nombre de molécules cibles présentes

dans la réaction au début de l'amplification. Chaque cellule porte en effet un exemplaire de la séquence cible située sur le génome (présent en quantité unique au sein de la cellule). Le nombre de molécules cibles est donc directement proportionnel au nombre de cellules de l'organisme ciblé (la moisissure correspondant aux amorces spécifiques utilisées pour réaliser la réaction d'amplification en l'occurrence) en présence dans le tissu végétal dont est extrait l'ADN total.

Utilisations possibles

La spécificité des amorces permet de cibler une espèce en particulier, et la méthode de mesure de l'amplification en temps réel permet de quantifier le nombre de génomes donc de cellules présentes.



Identification visuelle des espèces de *Fusarium*.
L'IFBM continue à la pratiquer à côté de la PCR. Deux techniques très complémentaires.

La méthode, si elle est utilisée avec des amorces permettant d'amplifier l'ensemble des *Fusarium*, permet d'établir la charge fusarienne globale. Ainsi, par comparaison entre mesures, on peut estimer les variations de cette charge en fonction de paramètres appliqués. Cela permet d'évaluer l'influence des intrants (produits phytosanitaires), des conditions pédo-climatiques au champ ou de variations de conditions de maltage sur la croissance des moisissures. La méthode est également applicable aux espèces dès lors que des amorces sont disponibles avec leur spécificité vis-à-vis d'une espèce donnée préalablement démontrée et

que la méthode de quantification a été validée. La validation de la PCR quantitative pour les 7 couples d'amorces spécifiques de *Fusarium* a été réalisée selon la norme VO3-110 (Analyse des produits agricoles et alimentaires - Procédure de validation intra-laboratoire d'une méthode alternative par rapport à une méthode de référence - Cas de méthodes d'analyse quantitatives). Les tests de normalité, linéarité, répétabilité et reproductibilité ont été réalisés selon un plan établi selon ce référentiel et transcrit en méthode interne de validation.

Bibliographie

- **Andrews S., Pitt J., 1986** - Selective medium for isolation of *Fusarium* species and Dematiaceous hyphomycetes from cereals. *Appl Environ Microbiol*, 51(6): 1235-8.
- **Boivin P., Benismail N., 2005** - Emergent mycotoxins in malting barley. In: *Proceedings of the European Brewery Convention, Prague*.
- **Fournier R., Noel N., Benizri E. & Boivin P., 2005** - Determination of *Fusarium* species in French brewing barley samples of harvest years 2003 and 2004 and relation with associated mycotoxins production. *EBC proceeding 30th, Prague*, 24.
- **Nelson PE, Toussoun TA, Marasas WFO., 1983** - *Fusarium species-an illustrated manual for identification*. London: The Pennsylvania State University press.
- **Nirenberg HJ., 1981** - A simplified method for identifying *Fusarium* spp. occurring on wheat. *Can J Bot* ; 59: 1599-1609.
- **Noël N., Boivin P., Benizri E., Fournier R., 2004** - Comparaison de deux méthodes d'identification des *Fusarium* présents sur orge de brasserie française en 2003. In: *Proceeding of the Séminaire 2004 de l'école doctorale RP2E. Vandœuvre-Lès-Nancy*. p. 207-215.
- **Schilling A.G., Möller E.M., Geiger H.H., 1996** - Polymerase chain reaction-based assays for species specific detection of *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* and *F. avenaceum*. *Phytopathology*, 86(5): 515-522.
- **Turner A.S., Lees A.K., Rezanoor H.N., Nicholson P., 1998** - Refinement of PCR detection of *Fusarium avenaceum* and evidence from DNA marker studies for phenetic relatedness to *Fusarium tricinctum*. *Plant pathology*. 47: 278-288.
- **Wilson A., Simpson D., Chandler E., Jennings P., Nicholson, 2004** - Development of PCR assays for the detection and differentiation of *Fusarium sporotrichioides* and *Fusarium langsethiae*. *FEMS Microbiol Lett*. Apr 1;233(1):69-76.

Résumé

L'IFBM suit depuis 2003 la contamination des orges de brasserie françaises par des *Fusarium* spp., moisissures potentiellement productrices de mycotoxines de la famille des trichothécènes. Ce suivi est réalisé par identification visuelle depuis 2003 mais aussi maintenant par PCR quantitative. Depuis 2009, sept couples d'amorces spécifiques permettent de différencier et quantifier par PCR sept espèces de *Fusarium* impliquées, productrices de trichothécènes (des groupes A ou B selon le cas) ou non. Le suivi de l'évolution des espèces au champ est ainsi possible : moments d'apparition décelés, évolution de leurs proportions quantifiées. Il en est de même pour les analyses des lots au stockage.

La PCR, qui permet la détection de souches mortes au moment de l'analyse après avoir produit leurs mycotoxines, complète l'identification visuelle qui ne détecte que des souches vivantes.

Des indications sur l'évolution des espèces présentes sur orge depuis 2003 sont données, avec les modifications des proportions d'espèces productrices de trichothécènes des groupes A (T2 et HT2) et B (DON notamment).

Mots-clés : qualité sanitaire des grains, orge, mycotoxines, trichothécènes, *Fusarium* spp., identification visuelle, PCR (polymerase chain reaction), spécificité, quantification, IFBM (Institut français de la brasserie et de la malterie).

Qualtech

EXPERTISE AT YOUR SERVICE

Filiale IFBM

**Détecter • Identifier
Conseiller • Accompagner**

Analyses

- Souches de *Fusarium* et *Microdochium* (qPCR ou visuel)
- Mycotoxines
 - **Nouveau** : Alcaloïdes d'ergot, Enniatines (dont Beauvéricine), Moniliformine
 - Analyses multi-toxines dont T2 et HT2 toxines
 - Résidus de produits phytosanitaires
Nouveau : Quantiscreen adapté à la filière céréalière

Atouts

- Laboratoire reconnu dans la filière céréalière (brasserie, meunerie...)
- Qualtech, filiale d'IFBM (Institut Français de la Brasserie et de la Malterie), à la pointe de la recherche en mycoflore et mycotoxines
- Accréditations COFRAC :
 - Programmes LAB GTA 21 (mycotoxines) et 99-2 (résidus de pesticides)
 - Identification des variétés de blé tendre et d'orge par PCR
 - **Nouveau**
Programme LAB GTA 25 : analyses physico-chimiques, technologiques et rhéologiques sur blés et produits de mouture
 - **Programme 159** : analyse visuelle des espèces de *Fusarium* sur céréales (QUALTECH agréé par le Ministère de l'Agriculture)

Fiabilité • Délai • Conseil

Contactez-nous :

Parc du technopôle Nancy-Brabois
7, rue du Bois de la Champelle - BP 86
F-54503 VANDŒUVRE Cedex
Tél. : +33 (0)3 83 44 88 00
Fax : +33 (0)3 83 44 12 90
email : contact@ifbm-qualtech.com



www.qualtech.fr