



## Edito

La lettre d'information du LABERCA a été saluée favorablement lors de la parution de son 1<sup>er</sup> numéro, voici donc le n°2. Celui-ci fait le point sur les avancées concernant des thèmes n'ayant pu être inclus dans le 1<sup>er</sup>. Il présente des résultats de recherche dans son champ de compétence officiel (MAAPAR/DGAL), mais aussi hors de ce champ, comme ceux sur les HAP ou encore les pesticides. Avec les vœux de bonne année 2005 de toute l'équipe, je vous souhaite une bonne lecture.

François André.

## Le LABERCA acteur du 6<sup>ème</sup> PCRD



Dans le cadre du 6<sup>ème</sup> PCRD, le laboratoire participera à compter de janvier 2005 à un projet de recherche Européen (IP), programmé sur 5 ans et impliquant une trentaine de partenaires. Celui-ci (acronyme BIOCOP) a pour objectif général le développement de nouvelles stratégies analytiques, basées sur des techniques émergentes de type transcriptomique et protéomique, pour l'analyse de résidus et contaminants dans les aliments. Les contrôles actuels, basés sur la mesure d'un nombre limité de composés connus *a priori*, apparaissent en effet aujourd'hui clairement perfectibles, notamment en terme de dépistage (analyse rapide d'un nombre important d'échantillons et recherche simultanée de nombreux composés). La nouvelle approche visée, systémique et innovante, consistera à étudier l'effet induit par les composés concernés, afin d'identifier un certain nombre de biomarqueurs (de type ARN ou protéines). Ce projet concernera différentes classes de composés (toxines, pesticides, hormones stéroïdes, quinolone, phytoestrogènes, métaux lourds). Le LABERCA sera responsable du groupe de travail sur les phytoestrogènes, et participera activement au groupe de travail sur les facteurs de croissance. Il sera également responsable de la dissémination des activités et résultats scientifiques liés à ce projet.

## En Bref

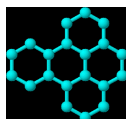
### • Formation continue

Suite à une demande de la Commission Européenne (DG Trade et DG Sanco), une session spéciale SARAF (School for Advanced Residue Analysis in Food) a été organisée du 22 novembre au 3 décembre dernier (20 participants, 15 nationalités différentes).

### • Assurance qualité

Le système de management de la qualité du laboratoire concernant ses activités de recherche (ISO 9001:2000) a été valorisé sur invitation via une communication orale, lors d'un congrès tenu le 20 Octobre dernier à Melle (B).

## Les hydrocarbures aromatiques polycycliques : des études de transfert via la chaîne alimentaire



Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) sont des composés organiques, ubiquitaires, plus ou moins complexes constitués de deux à sept cycles benzéniques. Chez l'homme, les principales voies d'exposition aux HAP sont l'inhalation de l'air à des degrés différents dépendants de l'urbanisation, du trafic et de l'industrialisation et l'ingestion alimentaire de produits contaminés par dépôts atmosphériques, par accumulation chez certaines espèces animales ou par des pratiques culinaires particulières (fumage, grillage, torréfaction, raffinage...). Pour un non fumeur, l'alimentation reste le principal vecteur d'exposition aux HAP avec des taux moyens évalués à 3 µg /personne /jour sachant que pour un fumeur, l'exposition est multipliée par environ deux. L'AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) a établi en 2003 une liste de 11 HAP indicateurs afin d'évaluer les risques liés à l'ingestion par voie alimentaire. L'INERIS (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques) a également publié en 2003 un rapport validant les recommandations de l'AFSSA et ajoutant une indication de dose virtuellement sûre de 5 ng/kg p.c/j basée sur un calcul de TEQ (Quantité Équivalent Toxique). Une méthode de dosage par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) de ces contaminants dans diverses matrices alimentaires est en cours de développement. Cette étude est complétée par une expérimentation menée en collaboration avec l'ENSAIA (École Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires) traitant du transfert et de la contamination du lait suite à l'ingestion d'HAP chez le ruminant laitier. Ce projet devrait conduire à une meilleure connaissance du métabolisme des HAP et des marqueurs de leur ingestion dans le lait.

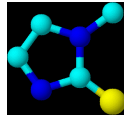
## Les produits phytosanitaires : des projets inter-régionaux avec le P.A.O.



Depuis 1999, le LABERCA a participé à trois projets de recherche interrégionaux (Bretagne et Pays de la Loire) dans le domaine des produits phytosanitaires. Le premier projet avait comme objectif d'évaluer le transfert de produits phytosanitaires particulièrement utilisés au niveau régional, du champ à l'assiette en intégrant les denrées d'origine végétale (carottes, épinards, pommes, baby-foods) et animale (lait, viande). Les résultats ont démontré que, même si des traces de pesticides ont été observées dans certains échantillons, ceux-ci étaient conformes à la réglementation en vigueur (concentrations largement inférieures à la limite maximale de résidus). Un second projet a consisté en l'étude de l'éventuelle contamination des mollusques marins par trois familles d'herbicides largement épandus en Bretagne et Pays de la Loire (phénylurées, triazines et aminophosphonates). Après un développement méthodologique conséquent, les essais réalisés sur des échantillons prélevés en zone dite « à risque » (en aval de bassins versants utilisant ces traitements) n'ont présenté aucune trace de contamination. Parallèlement, une étude en bassin sur des huîtres exposées au diuron a démontré que la quantité de diuron dans les huîtres était cinq à dix fois plus concentrée que dans l'eau. Enfin, le dernier projet toujours en cours porte sur les insecticides mis en cause par les apiculteurs, le fipronil et l'imidaclopride. Il s'agit d'une part d'évaluer la contamination en imidaclopride dans les eaux de surfaces et souterraines du Sud Vendée et d'autre part, d'étudier l'éventuel transfert du fipronil depuis la semence de maïs traitée jusqu'au lait, via la plante et l'ensilage. Cette seconde étude est réalisée en partenariat avec la Ferme Expérimentale des Trinottières de la Chambre d'Agriculture du Maine et Loire.



## Les antithyroïdiens de synthèse (ATS) : un contrôle relancé par de nouvelles méthodes



Capables d'inhiber la production des hormones thyroïdiennes, les ATS provoquent une perturbation des différents métabolismes sous leur dépendance directe. Il en résulte notamment une rétention d'eau extracellulaire élevée ainsi qu'un ralentissement du transit intestinal, propriétés pouvant être mises illégalement à profit en élevage. La qualité du muscle s'en trouve indubitablement amoindrie, le consommateur payant de surcroît de l'eau au prix de la viande. La présence de résidus de ces substances est susceptible de présenter pour le consommateur un risque cancérigène et tératogène. L'extraction ainsi que l'analyse de ces petites molécules polaires et amphotères par LC-MS/MS est un véritable challenge analytique pour lequel une approche visant à protéger ces molécules avant analyse a été développée. L'intérêt de cette réaction de dérivation est multiple : elle stabilise les tautomères sous une forme unique, moins polaire, afin de mieux les extraire et de faciliter leur analyse. Elle accroît la masse des composés étudiés afin de les « extraire » du bruit de fond lors de l'analyse par SM, tout en leur conférant des signaux intenses, augmentant ainsi la sensibilité. Cette augmentation de masse permet d'étudier des fragmentations spécifiques des composés dérivés, difficilement observables sur les petites molécules. Une nouvelle méthode a donc été mise au point et validée pour la recherche des ATS à l'état de trace (ppb) dans les urines.

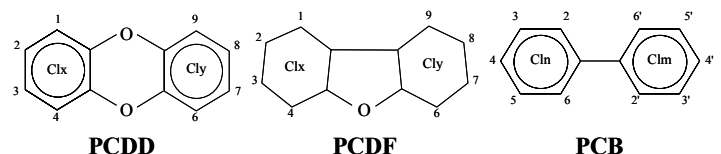
## La tétrahydrogestrinone (THG) : le nouveau stéroïde anabolisant à présent détectable

Malgré l'intensité des contrôles visant les facteurs de croissance de type stéroïdiens au sein de l'Union Européenne, le nombre d'échantillons non conformes reporté dans les principales espèces d'animaux de production est en très net recul depuis la fin des années 90. Cette observation peut trouver différentes explications, dont l'utilisation de nouveaux analogues structuraux appartenant aux classiques familles de facteurs de croissance, ou encore l'apparition de nouvelles classes de composés. La THG ou tétrahydrogestrinone fait partie de ces composés récemment découverts, la première mise en évidence de ce stéroïde ayant été révélée en 2003 par l'USADA (Agence Américaine de Lutte contre le Dopage). Le LABERCA a immédiatement développé une méthode de détection et d'identification de ce 19-norstéroïde par LC-MS/MS, après avoir étudié le métabolisme de cette molécule chez les bovins après administration orale et intra-musculaire. Le bio-marqueur de l'usage de cet anabolisant est la molécule parent non modifiée et minoritairement conjuguée, quelle que soit la matrice considérée (urine ou matière fécale). Cette méthode a été appliquée à plus d'une centaine d'échantillons d'urine (80% bovins, 20% porcins) prélevés dans le cadre du plan de contrôle français visant les facteurs de croissance. Les investigations se sont soldées par la non détection de la THG (CC $\alpha$  estimé à 0,1 ng.mL<sup>-1</sup>) dans les échantillons analysés.

## Les contaminants persistants organohalogénés (dioxines, PCB, PBDE) : la maîtrise de l'outil analytique par le laboratoire de référence permet aujourd'hui de vastes études d'exposition

Le LABERCA a été désigné en 2000 Laboratoire National de Référence pour le contrôle et l'analyse des dioxines et molécules apparentées dans les aliments. La compétence acquise en chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse haute résolution lui a permis d'être rapidement opérationnel en développant des méthodes pour lesquelles il est aujourd'hui accrédité. Les missions dévolues à cette unité, analyses liées aux plans de surveillance et contrôles, organisation des essais inter laboratoires, formation, sont assurées par 5 personnes. Un certain nombre de projets de recherche ont également été conduits depuis sa création. Un de ces projets soutenu financièrement par les régions Bretagne – Pays de la Loire vient de se terminer après 3 années de collaboration avec le LARCIP de l'école de chimie de Rennes. Il avait pour objectif de développer en région des compétences, pour faire progresser les techniques analytiques tout autant que d'enrichir les bases de données sur les émissions et les denrées. Le point d'orgue a été le suivi en 2003 de quatre sites industriels (UIOM), et notamment la caractérisation de leurs émissions, l'évaluation des retombées environnementales par l'analyse des sols marqueurs de pollution à long terme,

de l'herbe marqueur de pollution à court terme et enfin du lait provenant de dix exploitations choisies en fonction de leur proximité à la source et de leur positionnement selon la rose des vents. On peut se féliciter qu'aucune valeur n'ait dépassé au cours de l'année les limites maximales admises, même si une saisonnalité a été mise en évidence quelle que soit l'exploitation choisie. L'analyse des profils des congénères a par ailleurs démontré qu'une valeur ponctuelle ne pouvait suffire pour identifier ou caractériser une source de pollution ; seule la moyenne de valeurs prises dans le temps permet de relier les événements entre eux.



### Dernières Publications

- Antignac J-P., De Wasch K., Monteau F., De Brabander H., André F. and Le Bizec B. The ion suppression phenomenon in liquid chromatography-mass spectrometry and its consequences in the field of residue analysis. *Analytica Chimica Acta*, à paraître.
- Meunier-Solère V, Maume D, André F and Le Bizec B. Pitfalls in trimethylsilylation of anabolic steroids: new derivatisation approach for residue at ultra-trace level. *Journal of Chromatography B*, à paraître.
- Pinel G, Buon R, Aviat F, Larre C, André-Fontaine G, André F, Le Bizec B. Assessment of Western blotting and 2D-electrophoresis methods on biological samples for the demonstration of its administration. *Analytica Chimica Acta*, à paraître.
- Rambaud L, Bichon E, Cesbron N, André F and Le Bizec B. Study of 17 $\beta$ -estradiol-3-benzoate, 17 $\alpha$ -methyltestosterone and medroxyprogesterone acetate fixation in bovine hair. *Analytica Chimica Acta*, à paraître.