

Viande de cheval ou viande de bœuf ?



Quand une entreprise qui fabrique des lasagnes affiche qu'elles sont « pur bœuf », on ne doit pas trouver d'autres viandes, ni de protéines végétales comme le soja dans ce plat sinon cela constitue une fraude !

Le contrôle des produits de consommation, donc des lasagnes, est réalisé par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) dont les laboratoires disposent d'une technique permettant d'étudier l'ADN présent dans l'aliment et de déterminer son espèce d'origine. En effet, chaque espèce présente un ADN dont la séquence est spécifique et donc l'ADN de bœuf est différent de l'ADN de cheval par exemple. Cette technique d'étude de l'ADN est appelée Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR) et permet de recopier, ou d'amplifier spécifiquement l'ADN d'une espèce animale ou végétale.



Contexte : des échantillons de viandes hachées destinées à la préparation de lasagnes « pur bœuf » ont été prélevés dans une entreprise par un technicien de la DGCCRF. Votre mission, si vous l'acceptez, est de déterminer si ces viandes sont bien exclusivement d'origine bovine.

Objectifs :

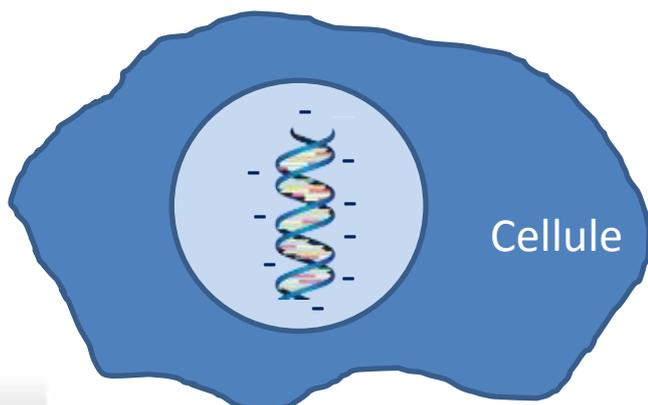
- Extraire l'ADN d'une viande hachée destinée à la préparation de lasagnes « pur bœuf ».
- Amplifier l'ADN extrait par PCR spécifiques de différentes espèces animales et végétales.
- Analyser les résultats par électrophorèse sur gel d'agarose.



1) Extraction d'ADN

Objectifs :

- **Extraire** : lyser les cellules pour extraire l'ADN
- **Purifier** : séparer l'ADN des constituants cellulaires.



Extraction



ADN

(chargé négativement)

Matériel :

- Viande hachée
- Tampon d'extraction :
Tris 10 mmol/L-EDTA 1 mmol/L
- SDS 20 %
- Acétate de sodium 1 %
- Alcool absolu conservé à -20°C
- Tube à essais
- Mortier
- Pastettes
- Becher
- Gazes
- Entonnoir
- Cuvette avec glace pilée
- Pipettes + poire d'aspiration
- Gants

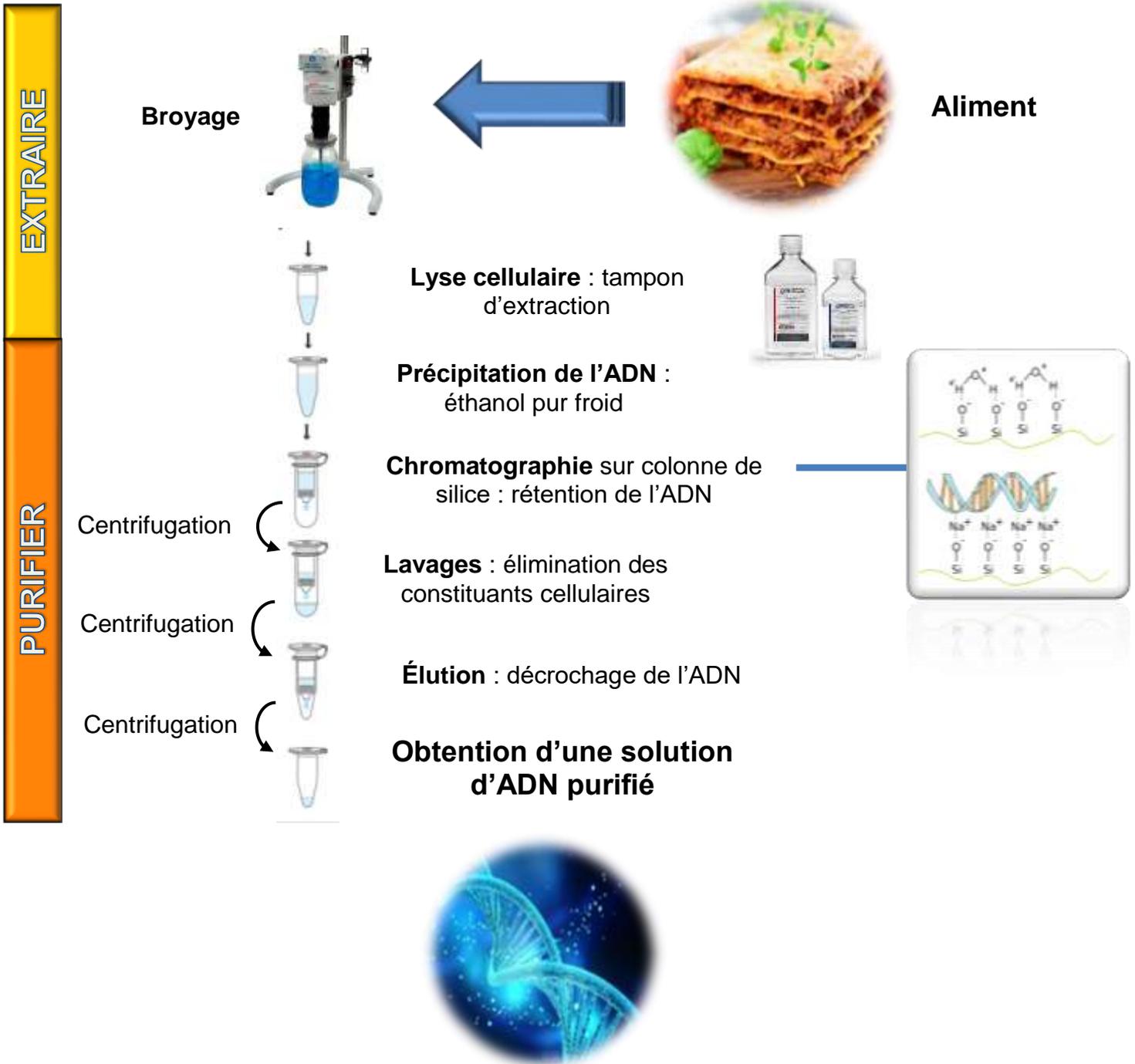
Protocole simplifié d'extraction permettant de visualiser l'ADN :

- Travailler avec les gants pour toutes les étapes suivantes.
- Broyer un morceau de viande hachée (cube d'1 cm de côté environ) dans un mortier avec 5 mL de tampon d'extraction et 0,5 mL de SDS.
- Ajouter 15 mL de tampon d'extraction et 1,5 mL de SDS et broyer encore.
- Verser dans un bécher placé dans la glace.
- Filtrer le broyat sur gaze au dessus d'un tube à essai placé dans la glace.
- Transférer 2 à 3 mL de filtrat dans un tube à essais placé dans la glace.
- Ajouter 2 mL d'acétate de sodium. Homogénéiser.
- Ajouter 3 mL d'éthanol absolu froid en le faisant couler délicatement sur la paroi du tube sans agiter.
- Laisser reposer 5 min dans la glace.
- Observer la formation d'une méduse d'ADN extrait à l'interface entre le broyat et l'alcool.

Question :

Justifier l'utilisation des gants et de la glace :

Protocole d'extraction et de purification d'ADN en vue de la réalisation d'une PCR :





2) Amplification spécifique d'ADN par PCR

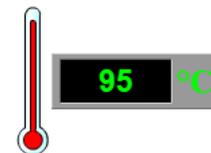
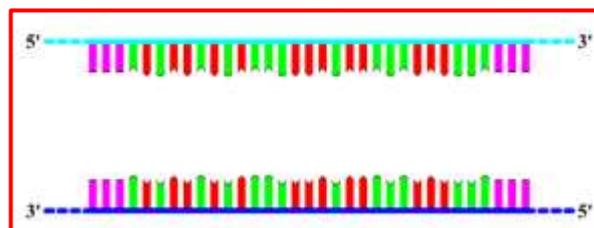
Objectifs : amplifier une séquence d'ADN spécifique d'une espèce animale par PCR.

Flasher pour voir une vidéo sur le principe de la PCR (en anglais)

On réalise, sur l'ADN extrait, des amplifications spécifiques :

- du bœuf,
- du cheval,
- du porc,
- du mouton,
- du poulet,
- du soja

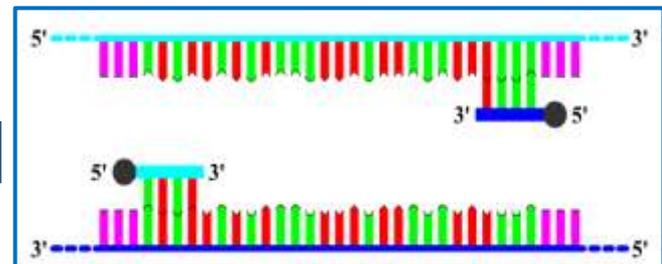
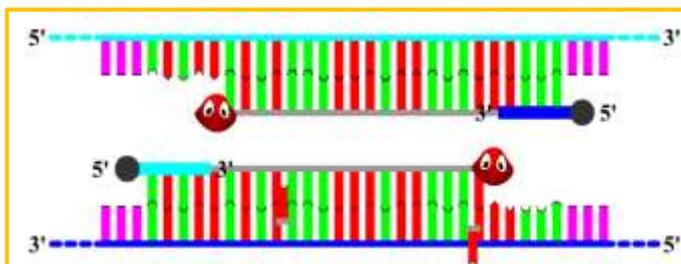
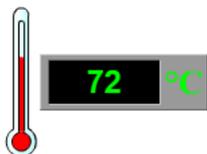
D'après ENS Lyon



Dénaturation

Elongation

Hybridation

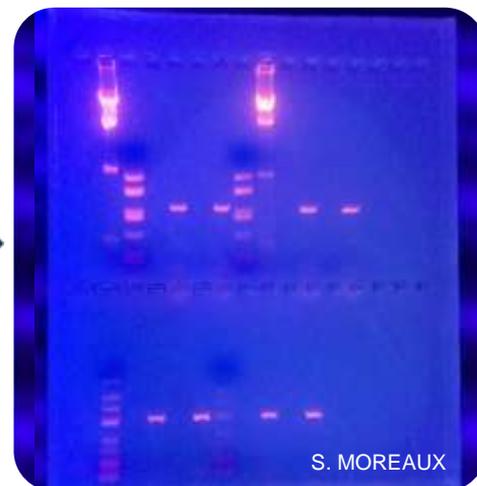
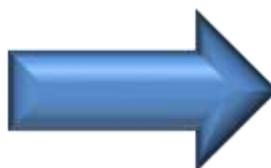


3) Analyse de l'ADN amplifié par électrophorèse en gel d'agarose

Objectifs :

- séparer les fragments d'ADN amplifiés en fonction de leur taille
- déterminer l'espèce d'origine de l'ADN amplifié

Electrophorèse en gel d'agarose

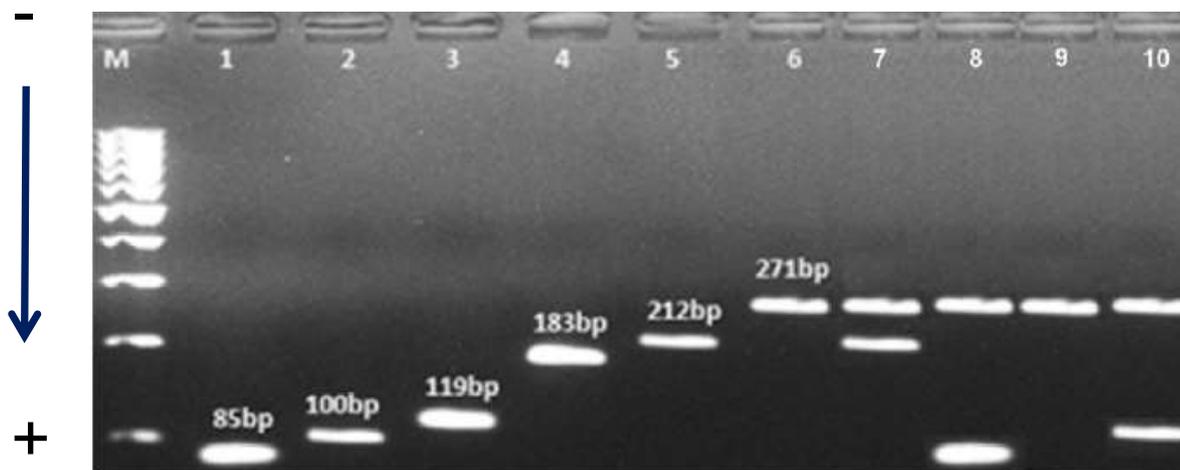


Résultats

Témoins

Essais

Marqueur **Cheval** **Soja** **Mouton** **Poulet** **Porc** **Boeuf** **Haché 1** **Haché 2** **Haché 3** **Haché 4**



Food Chemistry 192 (2016) 745–749

Questions :

Interpréter les résultats :

Viande hachée testée	faites le lien...	Interprétation : présence de...
Haché 1		bœuf + soja
Haché 2		bœuf + cheval
Haché 3		bœuf
Haché 4		bœuf + porc

Conclure sur une éventuelle fraude concernant les viandes hachées analysées :

Viande hachée testée	Conformité : + conforme - non conforme : fraude
Haché 1	
Haché 2	
Haché 3	
Haché 4	