

IV. Les mycotoxines

Les mycotoxines sont "des produits naturels, synthétisés par les champignons, capables de provoquer une réponse toxique lorsqu'ils pénètrent par voie naturelle (ingestion, inhalation ou absorption par la peau) chez l'animal ou dans l'organisme humain" (Bennett en 1987). Les mycotoxines retiennent l'attention dans le monde entier en raison des pertes économiques importantes qui sont liées à leurs effets sur la santé de l'homme, la productivité animale et le commerce national et international.

Le problème des mycotoxines a pris une importance considérable dans les années 1960 lorsque la découverte des aflatoxines a révélé que certaines moisissures étaient capables de synthétiser des substances toxiques responsables de pathologies chez l'homme. Plusieurs milliers de mycotoxines ont été identifiées mais heureusement, seules une vingtaine de familles posent des problèmes en alimentation humaine et animale. Six familles sont fréquemment rencontrées en agro-alimentaire : les aflatoxines, les ochratoxines, les fumonisines, les trichotécènes, la zéaralénone et la patuline.

Elles sont présentes dans toute une série de produits de l'alimentation humaine et animale et provoquent de nombreuses maladies chez l'homme et l'animal (Castegnaro, 1995; Coker, 1997 ; Pfohl-Leszkowicz, 1999). L'exposition aux mycotoxines peut être à l'origine de toxicités aiguës et chroniques allant de la mort à des effets délétères sur le système nerveux central, l'appareil cardiovasculaire et l'appareil respiratoire, ainsi que sur les appareils digestif et urinaire. Elles peuvent aussi avoir des effets cancérigènes, mutagènes, tératogènes et immunosuppresseurs. Le pouvoir qu'ont certaines d'altérer le système immunitaire et, ainsi, de réduire la résistance aux infections, est maintenant largement considéré comme leur effet le plus important. Les mycotoxines sont aussi associées au développement de cancers (ex foie/AFB en Afrique).

IV. 1. Moisissure

Le mot Moisissure est un terme générique qui regroupe tous les champignons microscopiques d'aspect lévuriforme ou filamenteux (micromycètes). Ce sont des champignons ubiquistes à croissance filamenteuse. Les micromycètes peuvent être bénéfiques et prendre part à la transformation de matières premières alimentaires (notamment lors de la fermentation), dans la production d'enzymes, de protéines, ou encore d'agents aromatiques. Ils peuvent aussi être utilisés dans la production de médicaments comme les antibiotiques (ex : amoxicilline), les immunosuppresseurs (ex : ciclosporine) ou les anticorps monoclonaux. Cependant, une souche employée à ces fins n'est pas nécessairement atoxique mais peut se révéler délétère dans certaines conditions (figure 1).



Figure 1 : *Penicillium roqueforti* dans du fromage

En effet, certaines souches sont nuisibles et interviennent dans l'altération des denrées alimentaires (figure 2) ainsi que dans la production d'agents pathogènes pour l'Homme et l'animal . Certaines souches au sein d'une même espèce ne sont pas obligatoirement toxiques.

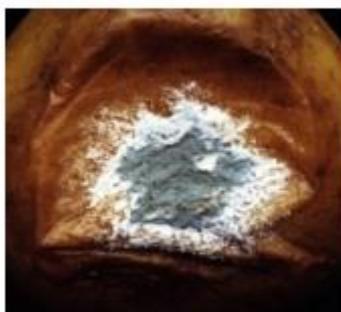


Figure 2 : Pomme contaminée par *Penicillium expansum*

Mycotoxine Le terme Mycotoxine provient du grec ancien « Mycos », qui signifie champignon, et du latin « Toxicum » signifiant poison. Les mycotoxines sont donc des substances toxiques, sécrétées essentiellement par les micromycètes. Ce sont plus précisément des métabolites dits secondaires, c'est-à-dire qu'ils ne sont pas indispensables au fonctionnement des champignons. Ils résultent de la dégradation de métabolites primaires rassemblant les sucres, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques, qui eux participent à la nutrition et à la croissance d'un organisme . Elles sont, chez l'animal et l'humain qui en consomment, à l'origine d'effets biologiques nocifs regroupés sous le terme de mycotoxicoses.

Certaines de ces toxines sont supposées cancérogènes ou mutagènes, tandis que d'autres sont toxiques pour les reins, le système nerveux ou encore le foie. Par ailleurs, il convient de noter que la toxicité ne provient pas forcément de la mycotoxine elle-même, mais peut être due à l'un de ses métabolites issus de sa dégradation.

Selon leur lieu de production, les mycotoxines peuvent être classées en deux catégories :

- Les mycotoxines de champs : on peut citer en exemple les Fumonisines, principalement produites par le genre *Fusarium* (figure 3). Les champignons producteurs se développent alors sur les plantes sénescentes ou stressées.



Figure 3 : Plant de tomates contaminé par *Fusarium* sp

- Les mycotoxines de stockage : la Citrinine et la Patuline sont produites essentiellement par les genres *Penicillium* et *Aspergillus* (figure 4).



Figure 4 : Épis de maïs contaminés par *Aspergillus flavus*

IV.2. Mycotoxinogénèse

La mycotoxinogénèse correspond à l'ensemble des conditions nécessaires au processus de synthèse et de sécrétion des toxines fongiques dans l'environnement. La production de toxines et le développement fongique sont intimement liés. Dès lors, les facteurs capables d'influencer la croissance fongique joueront aussi un rôle sur la toxinogénèse. En revanche, les conditions idéales de toxinogénèse sont plus étroites que celles favorisant le développement fongique (7).

La synthèse des mycotoxines n'est donc pas seulement influencée par des paramètres environnementaux mais aussi par la croissance d'une moisissure spécifique. Par conséquent, l'identification d'une espèce de moisissure sur un substrat ne permet pas de prédire avec certitude la présence d'une mycotoxine dans ce substrat. D'autre part, la résistance des toxines aux facteurs physiques est telle que l'absence de moisissures sur une denrée ne signifie pas obligatoirement que celle-ci est dépourvue de mycotoxines. La toxinogenèse est un processus complexe qui n'est pas intégralement connu. La synthèse des toxines fongiques et la croissance fongique sont donc conditionnées par divers facteurs d'ordre physiques, chimiques et biologiques à savoir

➤ Activité de l'eau

L'activité de l'eau, symbolisée par le sigle Aw (pour activity of water Elle permet de rendre compte de la quantité d'eau « libre », indispensable aux réactions biochimiques d'un micro-organisme. L'Aw permet de donner des informations importantes sur la stabilité physico-chimique d'un produit et sur son innocuité microbiologique. La valeur de l'activité de l'eau s'établit de 0 à 1. Plus l'Aw est grand, plus la quantité d'eau disponible pour la croissance d'un micro-organisme est importante. 0,98 *Penicillium viridicatum* 0,83 0,86 *Penicillium cyclopium* 0,82 0,86 Figure 5 :

Champignons	Aw minimum	Aw maximum
<i>Aspergillus niger</i>	0,90	0,98
<i>Aspergillus japonicus</i>	0,98	0,98
<i>Aspergillus flavus</i>	0,84	0,99
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0,83	0,87
<i>Aspergillus parasiticus</i>	0,82	0,98
<i>Penicillium viridicatum</i>	0,83	0,86
<i>Penicillium cyclopium</i>	0,82	0,86

➤ Température

La température est un facteur prépondérant de la croissance des micromycètes et donc de la production de toxines. Elle est intimement liée à l'activité de l'eau. De même que pour l'Aw, la température idéale de croissance d'un champignon ne correspond pas à celle de la toxine. De manière générale, elle est supérieure à la température optimale de la toxinogenèse. Pour *Penicillium viridicatum* (producteur

d'Ochratoxine A), sa croissance a lieu pour une température comprise entre 0 et 31°C et pour un Aw de 0,95 (figure 6).

Champignons	Tmin	Topt	Tmax
<i>Aspergillus flavus</i>	15	35	44
<i>Aspergillus clavatus</i>	10	25	37
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	8	24	28
<i>Penicillium purpurogenum</i>	12	28	35
<i>Fusarium tricinctum</i>	5	25	35

➤ Lumière

Bien que l'impact de la lumière n'ait pas été démontré sur la croissance des moisissures, il semblerait tout de même qu'elle intervienne sur la germination des spores, favorisant de ce fait la dissémination fongique (16). Certaines espèces ne peuvent pas se passer de lumière tandis que d'autres la fuient : chez *Verticillium agricinum*, l'exposition prolongée aux rayons ultraviolets peut limiter la croissance voire provoquer la mort du mycélium.

➤ **Facteurs chimiques** tel que l'acidité du milieu- pH ; Le potentiel hydrogène (ou pH) reflète l'activité chimique des ions hydrogènes (protons) en solution. Les aliments (en particulier les fruits et les légumes) ayant un pH inférieur à 6, se trouvent être des cibles privilégiées de l'infestation fongique. À l'instar du couple température/Aw, l'intervalle de pH permettant une croissance fongique optimale est plus étendu que celui permettant la synthèse de toxines. Ainsi, la Fumonisine B1 (FB1) est la plus produite à pH = 3,7, tandis que la croissance de sa moisissure productrice, *Fusarium proliferatum*, s'effectue préférentiellement à pH = 5,6 (17). Ainsi que la composition gazeuse La disposition O₂/CO₂ est une ressource sélective pour la croissance fongique.

➤ La nature du substrat

Les nutriments, dont les champignons ont besoin pour pousser, sont élémentaires et proviennent de matières organiques en décomposition. Les enzymes catabolisent le substrat pour former les nutriments requis, qui seront ensuite absorbés au travers des membranes cellulaires des moisissures. Ces molécules sont des sucres simples, des fractions d'amidon, des peptides et des substances carbonées (comme les acides aminés).

➤ En plus aussi des facteurs intrinsèques Ce sont l'ensemble des facteurs qui sont directement liés à la souche elle-même, comme la vitesse de croissance, la capacité de dissémination, la dispersion des spores ou encore la longévité des spores. Ce sont tous les facteurs qui

constituent le potentiel infectieux fongique influençant la synthèse de toxines dans un milieu déterminé (7).

➤ Interactions entre micro-organismes

La présence simultanée, dans le même milieu, de micro-organismes dits de « concurrence » (bactéries ou champignons) perturbe le développement fongique et la synthèse de toxines. Cela s'explique par la possible destruction de la toxine par une autre souche et par la compétition pour le substrat. Certains micro-organismes peuvent aussi modifier les conditions environnementales, les rendant ainsi défavorables pour la toxinogénèse.

IV.3. Champignons toxinogènes

Les mycètes sont constitués de filaments mycéliens (hyphes) et d'organes fructifères capables de coloniser divers substrats. Les mycotoxines sont principalement synthétisées par cinq espèces toxinogènes de champignons microscopiques : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Claviceps*, *Fusarium* et *Alternaria* (Figure 5).

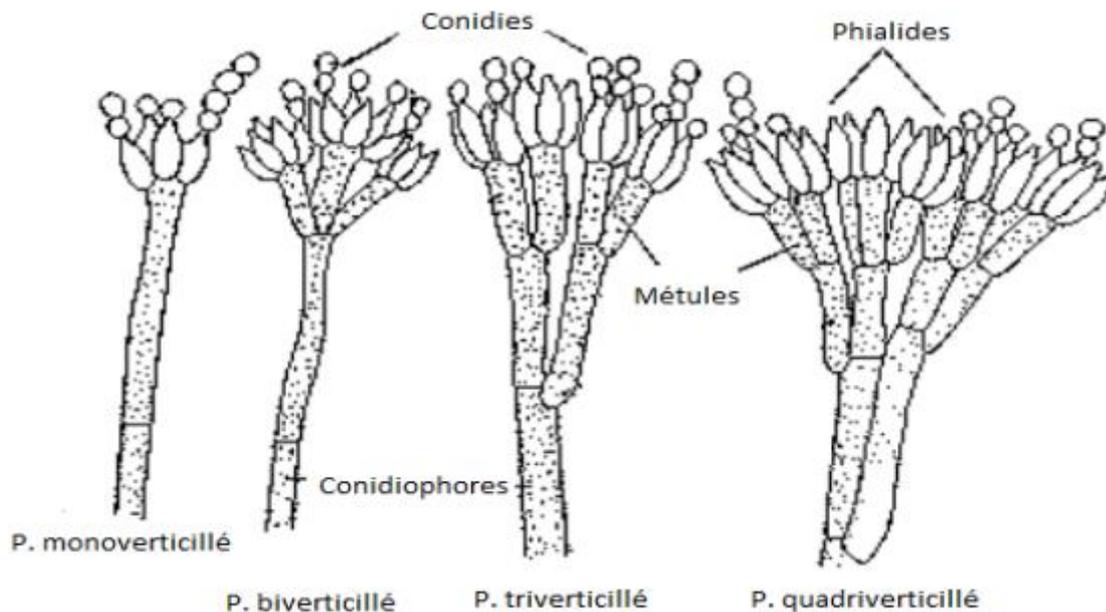
Micromycètes	Toxines
<i>Aspergillus</i>	Aflatoxines, Ochratoxine A Stérigmatocystine
<i>Fusarium</i>	Trichothécènes, Zéaralénone Fumonisines, Fusarine Moniliformine
<i>Penicillium</i>	Citrinine, Patuline, Pénitrem A Acide cyclopiazonique Ochratoxine A
<i>Alternaria</i>	Acide ténuazonique Alternariol
<i>Claviceps</i>	Alcaloïdes de l'ergot

IV.4. Principales moisissures toxigènes

1. Genre *Penicillium*

Le genre *Penicillium* comprend entre 150 et 300 espèces, réparties en quatre sous-genres appartenant à la division des Deutéromycètes. Les formes téléomorphes de certaines d'entre elles sont connues et appartiennent à l'embranchement des Ascomycètes dont les genres les plus représentatifs sont *Eupenicillium* et *Talaromyces*.

- Critères d'identification microscopiques et macroscopiques ; Les colonies présentent un aspect duveteux voire poudreux, de couleur vert-de-gris et, plus rarement, blanche. Morphologiquement, les individus du genre *Penicillium* se distinguent par leur organisation en pinceau (*Penicillius* en latin). Le thalle cloisonné porte les conidiophores, simples ou ramifiés, se terminant par un pénicille. Les conidiophores peuvent être groupés en faisceaux lâches ou rassemblés en corémies (colonne de conidiophores). Les phialides (cellules conidiogènes) sont disposées en verticilles à l'extrémité des conidiophores. Les phialides donnent naissance aux spores qui se positionnent alors en chaînes. Plusieurs dispositions sont possibles (schéma suivant)



Plusieurs espèces de *Penicillium* sont capables de produire des mycotoxines (figure 6):

Espèces	Toxines produites
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Acide cyclopiazonique, Roquefortine C
<i>Penicillium verrucosum</i>	Ochratoxine A, Citrinine
<i>Penicillium nordicum</i>	Ochratoxine A
<i>Penicillium roqueforti</i>	Acide pénicillique, Roquefortine C
<i>Penicillium expansum</i>	Citrinine, Patuline, Roquefortine C
<i>Penicillium viridicatum</i>	Ochratoxine A, Citrinine
<i>Penicillium cyclopium</i>	Ochratoxine A, Citrinine
<i>Penicillium citrinum</i>	Citrinine
<i>Penicillium oxalicum</i>	Roquefortine C, Acide sécalonique D
<i>Penicillium crustosum</i>	Pénitrem A, Roquefortine C
<i>Penicillium griseofulvum</i>	Acide cyclopiazonique, Patuline, Roquefortine C, Griséofulvine

Figure 6 : Quelques toxines produites suivant l'espèce de *Penicillium*

Les espèces de *Penicillium* étant les moisissures les plus répandues dans le milieu intérieur, de nombreuses pathologies leurs sont associées. Elles peuvent être causées par le champignon lui-même ou par les toxines qu'il produit. Les infections sont habituellement provoquées par l'inhalation de spores et se rapportent donc le plus souvent aux voies respiratoires inférieures et supérieures.

2. Genre *Aspergillus*

Le genre *Aspergillus* est classé dans la division des Deutéromycètes. De même que pour les *Penicillia*, certaines formes sexuées d'*Aspergillus* spp sont connues et appartiennent à la division des Ascomycètes, dont les genres les plus notables sont *Eurotium* et *Emericella*. Environ 180 espèces, réparties en 18 groupes, composent le genre *Aspergillus* (45). Sur ces 180 espèces, une vingtaine est pathogène pour l'Homme et l'animal.

De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont connues pour leur disposition à produire des toxines fongiques responsables de pathologies chez l'Homme et l'animal (Figure 7)

Espèces	Toxines produites
<i>Aspergillus carneus</i>	Citrinine
<i>Aspergillus clavatus</i>	Acide kojique, Patuline, Xanthocilline
<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxines B1 et B2, Acide aspergillique Acide cyclopiazonique, Acide kojique
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Fumigaclavine, Fumagiline, Fumitoxine Fumitremorgine A et C, Gliotoxine
<i>Aspergillus niger</i>	Malformine, Naftoquinone
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Acide kojique, Ochratoxines, Acide pénicillique, Acide sécalonique A
<i>Aspergillus oryzae</i>	Acide cyclopiazonique, Acide kojique
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxines B1 et B2, G1 et G2, Acide aspergillique Acide kojique
<i>Aspergillus terreus</i>	Citrinine, Patuline, Territrem, Terréine, Terrétonine
<i>Aspergillus versicolor</i>	Stérigmatocystine
<i>Aspergillus sydowii</i>	Stérigmatocystine, Griséofulvine
<i>Aspergillus candidus</i>	Candiduline

Quelques espèces d'*Aspergillus* sont responsables d'infections opportunistes, connues sous le nom d'aspergilloses. Elles apparaissent préférentiellement chez les sujets fragiles contractant par exemple des broncho-pneumopathies chroniques obstructives (BPCO), des emphysèmes, des cancers broncho-pulmonaires (33)... ou chez les patients soumis à des traitements immunosuppresseurs (corticothérapie, chimiothérapie).

3. Genre *Fusarium*

Les *Fusaria* sont des champignons filamenteux saprophytes appartenant aux Deutéromycètes. Certaines formes sexuées (*Gibberella*, *Nectria*) sont connues et rattachées à l'embranchement des Ascomycètes. C'est un genre qui comprend entre 50 et 100 espèces anamorphes. Le genre *Fusarium* tire son nom du latin « *fusus* » qui signifie fuseau, en référence à la forme des conidies.

De par leur capacité à produire des mycotoxines (figure 8, les *Fusaria* sont susceptibles de causer des infections et des intoxications graves chez l'Homme et chez les animaux, surtout d'élevage. Ces infections sont réunies sous le terme de fusarioses.

Espèces	Toxines produites
<i>Fusarium culmorum</i>	Trichothécènes B, Zéaralénone, Culmorine, Fusarine C
<i>Fusarium avenaceum</i>	Moniliformine, Fusarine C
<i>Fusarium graminearum</i>	Trichothécènes B, Zéaralénone
<i>Fusarium oxysporum</i>	Acide fusarique, Moniliformine, Oxysporine
<i>Fusarium poae</i>	Trichothécènes A, Fusarine C
<i>Fusarium proliferatum</i>	Moniliformine
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	Trichothécènes A, Zéaralénone, Fusarine C
<i>Fusarium verticillioides</i>	Fumonisines, Fusarine C, Moniliformine, Naftoquinone, Gibberelines

IV.5. Présentation des mycotoxines

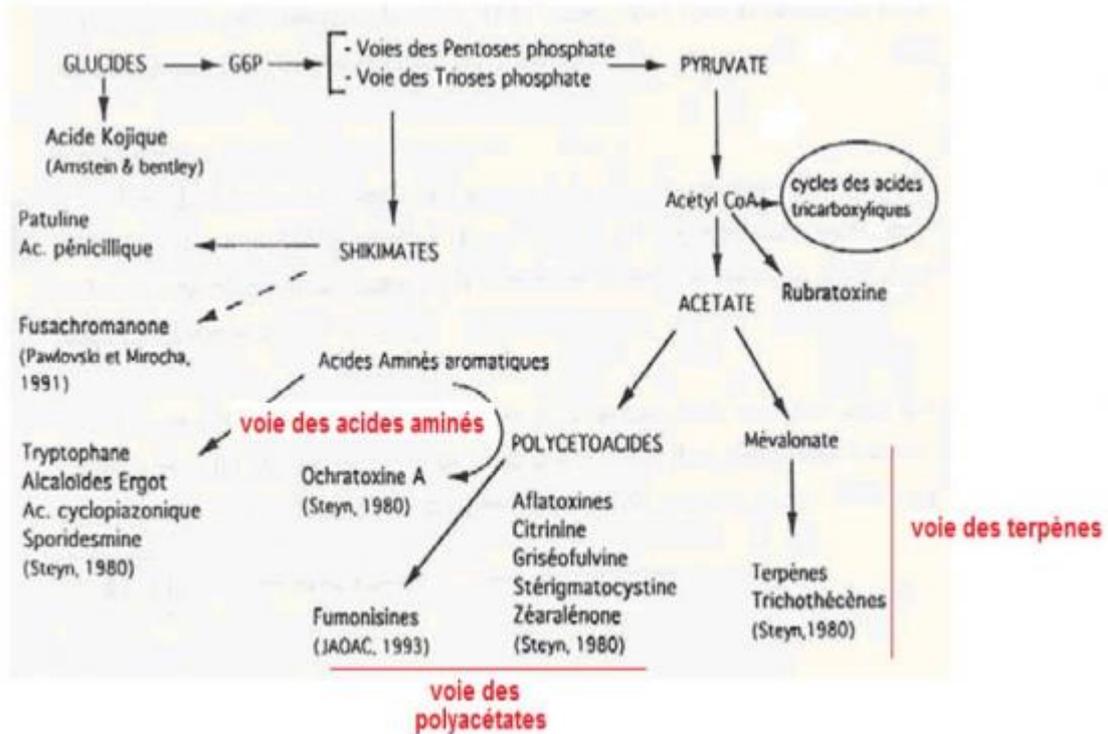
Plusieurs mécanismes peuvent amener à l'élaboration de toxines : - En contaminant un végétal, le mycète entraîne une augmentation des réactions métaboliques de la plante, conduisant ainsi à l'augmentation importante de teneur d'une molécule habituelle, ou à la formation d'une toxine normalement absente de la plante. - Le champignon transforme un composé peu ou non toxique en composé toxique : ainsi, par le biais d'une bioconversion, l'acide coumarique devient du dicoumarol, un puissant anticoagulant. - Dans le dernier cas, la toxine est un pur produit du champignon

Les mycotoxines ne forment pas un groupe chimique homogène mais sont classées en fonction des composés desquels elles sont issues (figure 23) :

- La voie des acides aminés : ce sont les unités constituant les protéines. Leur caractéristique commune est la présence des groupes -COOH et -NH dans leur structure chimique. EX ;les alcaloïdes de l'ergot du seigle, l'Acide aspergillique, la Roquefortine, les Sporidesmines, l'Acide cyclopiazonique, la Slaframine, la Tryptoquivaline, la Gliotoxine...

- La voie des polycétoacides (polyacétates) : ce sont des composés indispensables au métabolisme énergétique des cellules de tous les organismes vivants. Les Ochratoxines, les Aflatoxines, la Zéaralénone, la Stérigmatocystine, la Citrinine, la Patuline et les Rubratoxines sont issues de la métabolisation des polycétoacides.

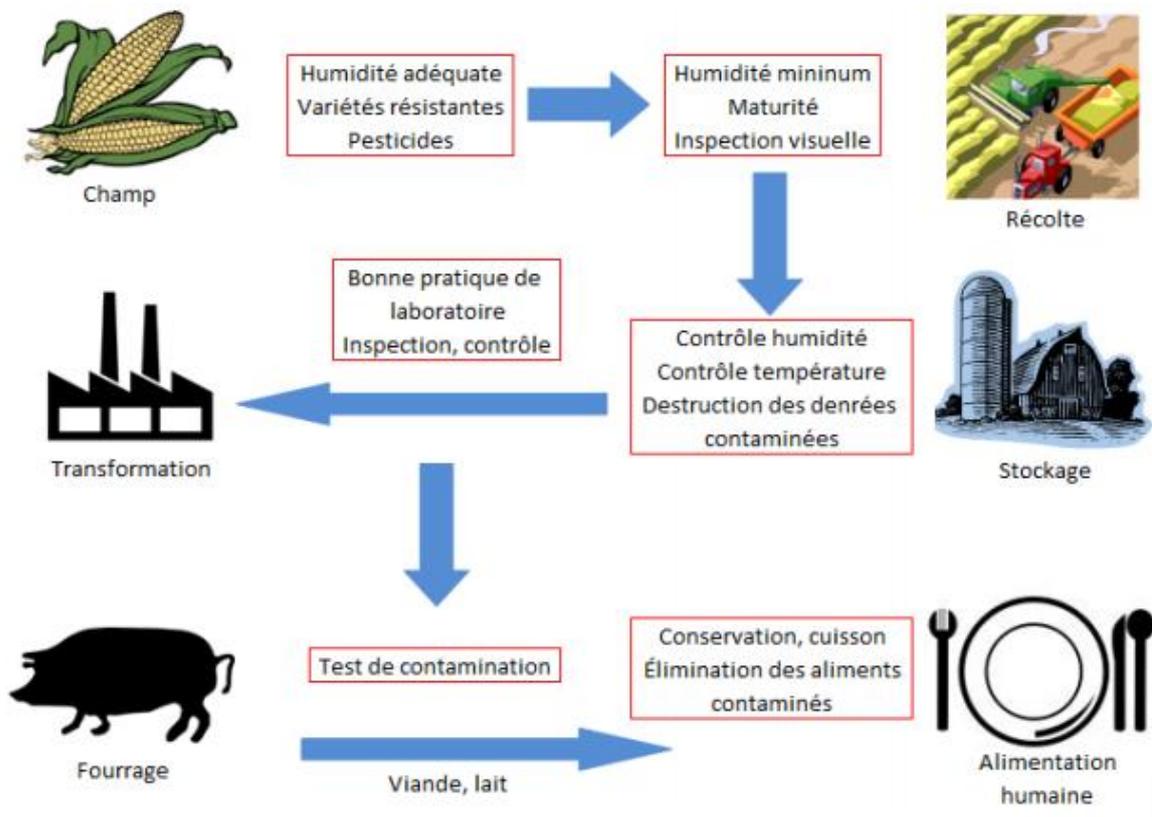
- La voie des terpènes : ce sont des composés organiques principalement issus des résines produites par les végétaux. La Toxine T2, le Déoxynivalénol, la Fusarénone, les Roridines ou encore les Verrucarines sont des dérivés des terpènes. Figure 9



IV. 6. Les Mycotoxines et l'alimentation

Du champ jusqu' à l'assiette, de nombreuses espèces de moisissures sont susceptibles de se développer et de sécréter des toxines si les conditions environnementales sont

favorables. L'infestation peut avoir lieu avant ou pendant le stockage (figure 9). Étant peu métabolisées par les organismes vivants, les toxines fongiques peuvent également se propager via les produits alimentaires d'origine animale (produits laitiers, viandes...), si l'animal a consommé auparavant un aliment lui-même contaminé .



Les champignons toxigènes sont classés en 4 groupes suivant le moment auquel ils se développent :

- pathogène pour la plante (ex. *F. graminearum* élaborant la zéaralénone)
- champignons poussant et produisant la mycotoxines sur plantes sénescents ou stressées (ex *F. moniliforme* produisant la fumonisine et *A. flavus* produisant les aflatoxines) *
- champignons colonisant à l'origine la plante et prédisposant celle-ci à la contamination par la mycotoxine lors de la récolte (ex *F. roseum* produisant des trichothécènes)

- champignons existant dans le sol et dans le matériel de putréfaction et qui proliféreront lors du stockage (ex *A. ochraceus* et *P. viridicatum* élaborant tous deux l'ochratoxine A).

IV.6.1. Les principales denrées concernées

1. Les céréales

Les céréales sont des vecteurs importants de dissémination des toxines fongiques, car elles sont universellement consommées par les animaux et les Hommes. Elles sont contaminées soit au champ soit au moment du stockage, principalement par l'intermédiaire des insectes. L'infestation des céréales par les moisissures est favorisée dans les pays aux conditions climatiques chaudes et humides tels que l'Asie du Sud-est, les pays d'Afrique et d'Amérique du Sud. Dans ces pays, les Aflatoxines sont les contaminants les plus fréquents du maïs, du millet, du sorgho, du riz, etc. En Europe, c'est l'OTA qui prédomine dans les céréales. En effet, les *Penicillia* produisant l'OTA se développent de préférence dans les régions tempérées ou froides.

2. Les fruits et légumes

Les fruits et légumes sont recouverts d'une multitude de moisissures à l'état de spores, capables de proliférer facilement si les conditions de stockage sont mauvaises. Le genre *Penicillium* est le contaminant majoritaire des fruits : *Penicillium digitatum* pousse sur les agrumes, *P. expansum*, quant à lui, prolifère préférentiellement sur les fruits des arbres du genre *Malus* (pommes) et dans les dérivés transformés de ces fruits (jus, compotes). Les jus de fruits insuffisamment stérilisés peuvent être contaminés par *Byssoschlamys* spp et *Humicola* spp, dont les spores résistent aux fortes températures.

3. Les produits laitiers

Un grand nombre de micromycètes est utilisé dans la fermentation des fromages. Dans ce cas, les champignons ont été ajoutés intentionnellement (« moisissures nobles ») : on parle alors de contamination endogène (*Penicillium camemberti*, *Penicillium roqueforti*...). Dans le cas contraire, on parle de contamination exogène. De nombreuses souches sont responsables d'une contamination exogène des produits laitiers, les individus du genre *Penicillium* étant les plus fréquents. Le lait en poudre et les yaourts sont aussi concernés par la contamination de moisissures appartenant aux genres *Alternaria*, *Mucor*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Geotrichum* et *Rhizopus*. D'autres produits laitiers sont aussi touchés : le beurre rancit sous l'action d'*Aspergillus repens* et le lait peut être contaminé par l'AFM1, produite par *Aspergillus flavus*:

4. Les oléagineux

Les genres *Penicillium*, *Fusarium* et *Aspergillus* sont couramment retrouvés dans les graines et les tourteaux (résidus obtenus après extraction des huiles). Les noix et les oléagineux sont les substrats privilégiés d'*Aspergillus flavus*, sous les climats chauds et humides. Par conséquent, les arachides, le colza, le coton et les huiles contiennent souvent des quantités importantes d'Aflatoxines. Toutefois, les toxines sont en grande partie éliminées lors de l'extraction des huiles et de l'étape de purification.

5. Viande et les charcuteries

Les charcuteries ne sont pas des substrats naturels favorables aux champignons toxigènes. Néanmoins, des moisissures peuvent se multiplier, comme *Wallemia sebi*, qui produit le Walleminol A. La contamination des viandes résulte plutôt de la transmission des toxines par le biais de la chaîne alimentaire. L'Ochratoxine A est ainsi couramment retrouvée dans les muscles de porc et de volailles, et dans les abats

Plusieurs sortes de mycotoxines sont retrouvées dans les aliments (tableau 1), seulement certaines contaminent l'alimentation humaine et sont toxiques pour la santé humaine, les plus préoccupante étant : les aflatoxines, l'ochratoxine, la zéaralénone, la citrinine, la patuline, les trichothécènes, les fumonisines (D'Mello & McDonald, 1997 ; Scudamore & Livesey, 1998 ; Pfohl-Leszkowicz, 1999, CAST 2003). Tableau 1 : Moisissures et mycotoxines retrouvées dans certains aliments.

Champignons	Toxines	Denrées
<i>Aspergillus</i>	Aflatoxines Ochratoxines A	Maïs, cacahuète, graine de coton, riz, tissus d'animaux (jambon, lard, saucisse), lait et dérivés
<i>Fusarium</i>	Zéaralénone, Fumonisines, Trichothécènes	Blé, maïs, orge, riz, seigle, avoine
<i>Penicillium</i>	Patuline, Ochratoxine A, Citrinine	Fruits et jus de fruits, blé, riz, fromage, noix
<i>Alternaria</i>	Alternariol	Fruits, légumes et produits dérivés de pommes et tomates
<i>Claviceps</i>	Alcaloïdes de l'ergot	Blé et dérivés, seigle

La contamination des aliments de l'homme ou des animaux peut provoquer un certain nombre de maladies (Pfohl-Leszkowicz, 1999 ; Cast 2003). La plupart des moisissures toxiques poussent sur l'aliment, diffusent dans la masse de l'aliment, élaborent des toxines et provoquent des intoxications. Ces intoxications parfois sérieuses et mortelles chez l'animal sont plus rares chez l'homme

Pour qu'une substance soit considérée comme responsable d'un mycotoxicose chez l'homme, cinq conditions doivent être remplies:

- existence de la mycotoxine dans l'alimentation
- exposition de l'homme à cette mycotoxine
- corrélation entre l'exposition et l'incidence de la maladie
- reproductibilité des symptômes caractéristiques chez les animaux

- mode d'action similaire chez l'homme et les animaux.

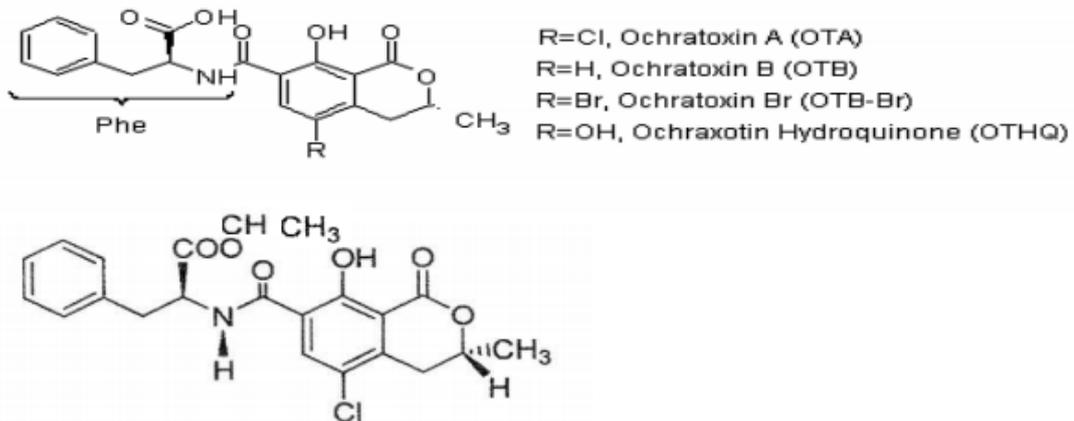
Pour déterminer si l'homme est soumis à contamination on peut procéder de deux manières: analyse de la nourriture, mesure des résidus du produit ou des métabolites dans les tissus et fluides. Cependant, l'absence de marqueurs biologiques ne signifie pas toujours non contamination. Quant à la corrélation entre exposition et incidence, elle ne peut être mise en évidence que par des études épidémiologiques. .

IV.6.2. Exemple de Mycotoxines

IV.6.2.1. L'ochratoxine A.

1. Origine et structure.

L'ochratoxine A a été isolée pour la première fois en 1965, par un groupe de chercheurs sud-africains à partir d'un isolat d'*Aspergillus ochraceus* (Van der Merwe et al., 1965 a et b). Elle est constituée d'une molécule de 3-méthyl-5-chloro-8-hydroxy-3,4 dihydroisocoumarine liée par une liaison peptidique, au niveau de son groupement carboxyle en C7, au groupement amine de la L-β-phénylalanine. L'ochratoxine B (OTB) est le dérivé non chloré de l'OTA et l'ochratoxine C (OTC) est son ester éthylique. Bien que leur structure soit voisine, leur potentiel toxique est très différent (figure 11).



Ochratoxine C

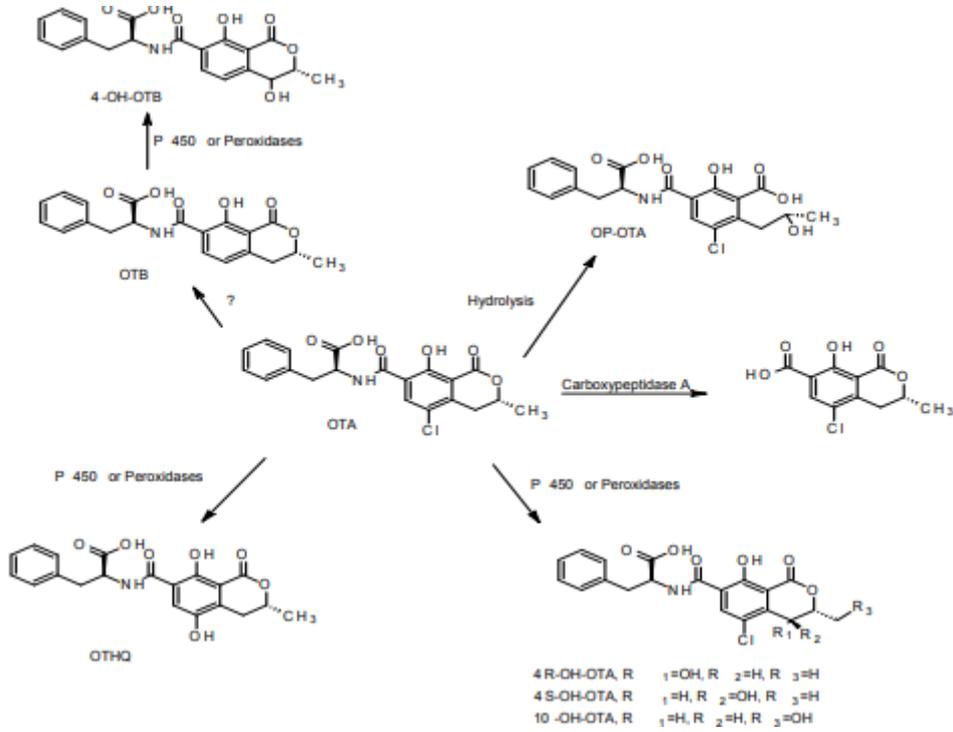
Figure11 : Structure de L'ochratoxine A.

2. Production de l'OTA.

L'OTA est un métabolite secondaire élaboré par diverses moisissures des genres *Aspergillus* et *Penicillium*. La production d'OTA est liée aux conditions de température, d'humidité ambiante, et de teneur en eau du support contaminé (Aw) (Pitt, 1987). La température optimale de production de l'OTA par *Aspergillus ochraceus* est de 28°C (Trenk et al., 1971), alors que *Penicillium viridicatum* produit dans une gamme de température qui varie de 4 à 30°C (Mislivec & Tuite, 1970). Dans les régions froides, l'OTA est donc plutôt produite par des *Penicillia*, alors que dans les régions chaudes, ce sont plutôt les *Aspergillii* qui la synthétisent (Pohland et al, 1992; Miller, 1995). En Europe et au Canada, *P. verrucosum* est considéré comme la principale moisissure productrice d'OTA dans les céréales (JECFA, 2002). L'OTA est produite dans le café ou les raisins par des *Aspergillii*.

3. Toxicocinétique de l'OTA.

L'OTA, une fois ingérée, est partiellement absorbée par la diffusion passive de la forme non ionisée à travers la paroi de l'estomac. Le site principal d'absorption se situe au niveau du jéjunum. Elle est ensuite distribuée aux différents organes via le foie. On retrouve peu d'OTA sous forme libre dans le sang. En effet, l'OTA a une très grande affinité pour certaines protéines plasmatiques où elle est fixée à 90 %. Cette fixation retarde le transport de l'OTA vers les différents organes et augmente sa demi-vie sérique et par conséquent contribuerait au développement des effets toxiques chroniques de cette toxine. C'est chez les humains que l'OTA possède la plus longue demi-vie dans le plasma qui est estimée à un mois (StuderRohr et al., 2000). L'OTA est éliminée par toutes les voies d'excrétion (urinaire, fécale et biliaire). Une partie de l'OTA qui se retrouve dans la bile peut être réabsorbée au niveau de l'intestin. Des études récentes montrent que l'absorption ainsi que l'élimination s'effectue via des transporteurs. Dans l'organisme l'OTA est métabolisée en 4-R-hydroxyochratoxine A (4R-OHOA) ; 4-S-hydroxyochratoxine A (4SOHOA) ; 10 OH-OTA, OTB (forme déchloré de l'OTA) ; OP-OTA (forme ouverte de l'OTA) ; OTHQ (forme quinone) pouvant être retrouvés dans le sang ou les urines sous ces formes là ou conjugués au glutathion. Un mécanisme de métabolisation a été proposé récemment (figures 12; Pfohl-Leskowicz et al, 2002 ; Manderville&Pfohl-Leskowicz, 2006).



4. Effets toxiques.

1. Toxicité aiguë.

La toxicité aiguë de l'OTA varie en fonction de l'espèce, du sexe et de la voie d'administration. Le rein est l'organe cible de l'OTA (pour un article général voir Pohland et al., 1992 ; Pfohl-Leszkowicz, 1999).

2. Toxicité subaiguë et chronique.

L'exposition à de faibles doses d'OTA est à l'origine de néphrotoxicité et de cancers des voies urinaires. L'OTA est aussi immunotoxique, hépatotoxique et tératogène, mais nous ne décrivons pas ces effets dans cette

2.1. Néphrotoxicité.

L'OTA est potentiellement néphrotoxique chez toutes les espèces testées à l'exception de ruminants adultes (Ribelin et al., 1978). Des études effectuées au Danemark, en Hongrie, en Scandinavie et en Pologne, ont montré que l'OTA pourrait jouer un rôle majeur dans l'étiologie de la néphropathie porcine, en conjonction avec la citrinine (Krogh et al., 1973 ; Krogh et al., 1974).

3. Carcinogénicité

L'OTA a été classée dans le groupe 2B : « cancérigène possible pour l'homme ». En effet, les études épidémiologiques faites sur les patients bulgares réalisées en 1993 n'ont pas été prises en compte car le groupe de travail a estimé qu'il était difficile de séparer les patients atteints de BEN de ceux atteints de cancer des voies urinaires. Néanmoins ces études ont démontré que la BEN est associée à une augmentation significative du nombre de tumeurs des voies urinaires. Analyse bibliographique 37 supérieures et qu'elle peut être directement reliée à la consommation de nourriture contaminée par l'OTA dans cette région (Bordas et al., 1973 ; Markovic, 1985 ; Chernozemsky et al., 1977 ; Castegnaro et al., 1987).

4. Mécanismes de génotoxicité

Formation d'adduits à l'ADN Deux hypothèses générales ont été proposées pour expliquer le mécanisme de cancérogenèse de l'OTA.

La première notion suggère que l'OTA induit un flux d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui génèrent un stress oxydatif et des dommages oxydatifs à l'ADN. La seconde notion suggère que l'OTA subit une bioactivation aboutissant à la formation d'espèces électrophiles qui réagissent directement avec l'ADN générant des adduits à l'ADN.

Les deux phénomènes peuvent d'ailleurs être complémentaires. Des adduits à l'ADN ont été détectés, par la méthode de post-marquage au ³²P, dans des reins de plusieurs animaux traités par l'OTA (figure 6) (pour un article général récent voir Pfohl-Leszkowicz & Manderville, 2007). L'OTA provoque la formation d'adduits à l'ADN dans différents organes de souris et de rats (Pfohl-Leszkowicz et al., 1991 ; 1993b). Cette formation est dépendante de la dose. Les adduits varient d'un organe à l'autre et d'une espèce à l'autre en fonction des voies de métabolisation (Pfohl-Leszkowicz et al., 1993 a et b)

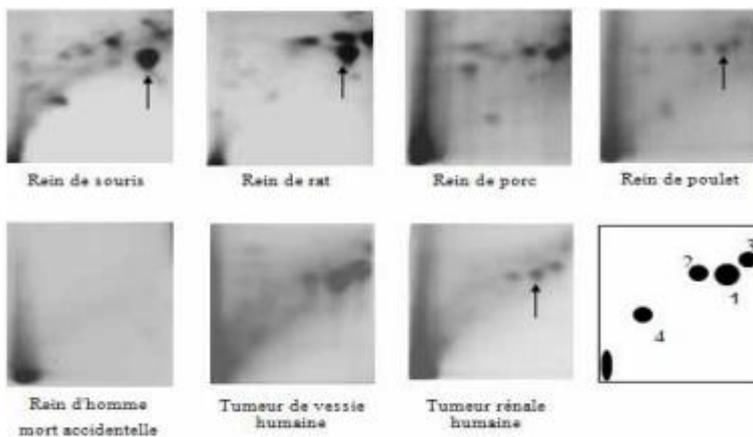


Figure 12: Comparaison des profils d'adduits à l'ADN typiques de l'OTA détectés dans plusieurs espèces animales et dans des tumeurs humaines (d'après Pfohl-Leskowicz & Castegnaro, 2005).

IV.6.2.2 Les Aflatoxines

Les aflatoxines sont produites par des *Aspergillii* se développant entre autres sur les céréales et les oléagineux dans des atmosphères chaudes et humides. L'exposition chronique aux aflatoxines (AF) est responsable de cancers chez diverses espèces animales. Non seulement, l'AFB1 mais également le mélange des quatre aflatoxines (B1, B2, G1, G2) induit Analyse bibliographique 44 des tumeurs hépatiques aussi bien chez la souris que le rat, mais également chez le canard, la truite, le saumon et le singe (Castegnaro et al, 1999). En général, il s'agit de cancer primaire du foie, néanmoins des tumeurs des reins, de la vésicule biliaire, du pancréas, de la vessie peuvent avoir lieu ainsi que des leucémies. La fréquence de tumeurs rénales et d'adénome du colon, est augmentée en cas de déficience en vitamine A. Le pouvoir cancérigène des AF dépend de leur structure chimique. Ainsi l'AFB1 est le plus puissant cancérigène hépatique, alors que l'AFG1 induit plutôt des tumeurs rénales. Les cancers primaires du foie sont caractérisés par des carcinomes hépatocellulaires, des cholangiosarcomes et des hépatoblastomes. L'aflatoxine a un effet co-carcinogène avec le virus de l'hépatite B sévissant souvent dans les mêmes zones. De plus, l'inhalation de poussière contenant des AF est responsable de tumeurs du système respiratoire. Ainsi, des associations entre cancer et exposition professionnelle à des mycotoxines ont été mises en évidence. L'interaction ADNtoxine est le point clef dans le développement du processus de cancérogenèse. Il a été clairement démontré, lors d'études expérimentales chez l'animal, que les aflatoxines se fixent sur l'ADN.

IV.6.2.1. La Zéaralénone

La zéaralénone est produite par des *Fusaria*, peuvent se retrouver dans les céréales notamment lorsque celles ci ont été stockées dans de mauvaises conditions à des températures relativement basses et exposées à l'humidité. La zéaralénone induit des cancers hépatiques et de la glande pituitaire, mais à des doses nettement supérieures aux doses engendrant un effet hormonal (WHO, 2002). Pour cette raison, elle n'est pas considérée comme étant elle-même cancérigène. Les effets seraient dus à l'effet hormonal. Néanmoins, la zéaralénone est génotoxique et forme des adduits à l'ADN (Pfohl-Leskowicz et al. 1995).

IV.6. Législation concernant les mycotoxines

4.1 Etat de la réglementation L'établissement de la législation s'effectue en deux temps. Tout d'abord la substance est évaluée sur la base des données toxicologiques disponibles. Divers comités émettent des avis, qui dans un deuxième temps vont servir pour définir les limites maximales de résidus. L'évaluation du risque se fait à deux niveaux:

- Au niveau européen cette évaluation est réalisée par "comité scientifique de l'alimentation humaine" (CSAH) afin d'établir la toxicité des mycotoxines, des facteurs de sécurité et émettre les avis qui serviront pour les législations applicables en Europe.

- Au niveau international cette évaluation est réalisée par le JECFA (joint expert commite of Food and Additives) qui analyse également la toxicité des mycotoxines et élabore les recommandations au niveau du codex alimentarius.

L'un et l'autre sont chargés de fixer une DJT (dose journalière tolérable) ou DHT (dose hebdomadaire tolérable) exprimée en μg ou ng/kg de poids corporel. Les législations européennes et les normes codex ne sont pas forcément identiques. Dans le cas des mycotoxines la législation européenne est souvent plus sévère que les normes Codex.