

Toxicologie des mycotoxines : dangers et risques en alimentation humaine et animale

Toxicology of mycotoxins, hazards and risks in human and animal food

Pierre GALTIER⁽¹⁾, Nicolas LOISEAU, Isabelle Paule OSWALD et Olivier PUEL
(mémoire présenté le 24 novembre 2005)

RÉSUMÉ

Les mycotoxines sont des produits du métabolisme secondaire de moisissures pouvant se développer sur la plante au champ ou en cours de stockage. Ces toxines se retrouvent à l'état de contaminants naturels de nombreuses denrées d'origine végétale : céréales, fruits, noix, amandes, grains, fourrages ainsi que d'aliments composés et manufacturés issus de ces filières. La toxicité des mycotoxines se révèle lors des mycotoxicoses des animaux d'élevage. Elle est variable, certaines exerçant un pouvoir hépatotoxique voire cancérogène (aflatoxines), d'autres se révélant œstrogéniques (zéaralénone), immunotoxiques (patuline, trichothécènes, fumonisines), néphrotoxiques (ochratoxine A) ou neurotoxiques (trémorgènes). Un autre aspect de leur toxicité est la prise en compte des résidus présents dans les productions issues d'animaux ayant consommé une alimentation contaminée. L'évaluation du risque mycotoxique demeure délicate car ce risque est d'essence naturelle, l'homme n'en maîtrisant pas la survenue ; il est pernicieux car la contamination fongique est difficilement contrôlable et enfin il peut être multiple en raison de la possible association d'effets de toxines produites par une même moisissure. Devant ce constat, il convient de poursuivre une activité de recherche soutenue afin d'améliorer encore nos connaissances sur la toxicité de ces dérivés et notamment dans les cas d'associations entre mycotoxines ou entre toxines et agents pathogènes infectieux.

Mots-clés : mycotoxine, moisissure, aliment, toxicité, résidus.

SUMMARY

Mycotoxins are secondary metabolites produced on plants either in the field or during storage. These toxins are found as natural contaminants on numerous foods and feeds of plant origin, such as cereals, fruits, nuts, almonds, grains, fodder, as well as processed foods and feeds using these ingredients. The toxicity of mycotoxins varies, ranging from hepatotoxic or even carcinogenic (aflatoxins) effects, to estrogenic (zearalenone), immunotoxic (patulin, trichothecenes, fumonisins), nephrotoxic (ochratoxin A) and neurotoxic (tremorgens) effects. Their toxicity can also be caused by the presence of mycotoxin residues in products deriving from animals fed with contaminated feedstuffs. The mycotoxin risk is difficult to evaluate, as mycotoxins are natural contaminants impossible to eliminate, fungal contaminations are difficult to control, and one mould may produce several toxins. Consequently, further research is needed to improve current knowledge on the toxicity of these products, particularly when various mycotoxins are combined, either together or with other toxins or pathogens.

Key words: mycotoxin, fungus, food, toxicity, residues.

(1) Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie UR66 INRA, 180, Chemin de Tournefeuille, 31931 Toulouse cedex 9.

• INTRODUCTION

Les mycotoxines sont des produits du métabolisme secondaire de moisissures pouvant se développer sur la plante au champ ou en cours de stockage et doués de potentialités toxiques à l'égard de l'homme et des animaux. Plus de 300 métabolites secondaires ont été identifiés mais seule une trentaine possèdent de réelles propriétés toxiques préoccupantes. Ces toxines se retrouvent à l'état de contaminants naturels de nombreuses denrées d'origine végétale : notamment les céréales mais aussi les fruits, noix, amandes, grains, fourrages, ainsi que les aliments manufacturés ou composés destinés à l'alimentation humaine et animale.

Les mycotoxines sont secrétées par des moisissures appartenant notamment aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Deux groupes de champignons toxigènes peuvent être distingués. Le premier type est constitué de champignons envahissant leur substrat et produisant la mycotoxine sur plantes sénescentes ou stressées : il est alors question de toxines de champs. L'autre groupe rassemble ceux qui produisent les toxines après récolte, on les qualifie de toxines de stockage. On distingue parmi les groupes de mycotoxines considérées comme importantes du point de vue agro-alimentaire et sanitaire, les aflatoxines, l'ochratoxine A, la patuline, les fumonisines, la zéaralénone, les trichothécènes et notamment le déoxynivalénol et la toxine T-2. Il convient de remarquer que dans un groupe structural de toxines, la toxicité peut varier très largement d'une toxine à une autre et que le danger ne vient pas toujours de la toxine elle-même mais peut être dû à ses métabolites.

Historiquement, la mycotoxicose la plus anciennement connue en France, est l'ergotisme. En fait, des moisissures toxigènes peuvent se développer sous tous les climats, sur tous les supports solides ou liquides dès l'instant qu'il y a

des éléments nutritifs, de l'humidité, d'où la grande variété de substrats alimentaires concernés. Les aliments contaminés par les mycotoxines peuvent être classés en deux groupes : les aliments et produits d'origine végétale, et ceux d'origine animale. Parmi les produits et aliments d'origine végétale, les céréales présentent le plus grand facteur de risque, compte tenu de leur consommation importante, quel que soit le régime alimentaire et de la fréquence de leur contamination. Les autres produits d'origine végétale sont les fruits et légumes secs, les épices, le café, le cacao et les jus de fruits et leurs produits de fermentation. Parmi les produits et aliments d'origine animale, le lait, les viandes, les abats et tout ce qui en dérive, doivent retenir l'attention en priorité.

• TOXICOLOGIE DES PRINCIPALES MYCOTOXINES

Toxicité expérimentale

De l'exposition alimentaire aux mycotoxines résulte l'apparition de mycotoxicoses atteignant essentiellement les animaux d'élevage ; des exemples en sont donnés dans la deuxième partie de ce chapitre. Toutefois, des intoxications subaiguës peuvent engendrer des déficits insidieux en élevage comme la réduction des performances zootechniques et de reproduction ou encore la sensibilité accrue aux infections. Les principales mycotoxines sont brièvement présentées en termes de propriétés toxiques aiguës et chroniques, et de dangers potentiels vis à vis de l'animal et du consommateur.

Le **tableau 1** présente une estimation comparée des doses létales moyennes (DL50) des principales mycotoxines obtenues par voie orale chez la souris. Ces valeurs se situent entre le g/kg de poids corporel pour les toxines dépourvues de toxicité aiguë (cas des fumonisines ou de la zéaralénone) et quelques mg/kg de poids corporel pour celles capables

DL50 orale (mg/kg)	
> 1000	fumonisine B1, zéaralénone
500	acide pénicillique
200	lutéoskyrine, sporidesmine, a. ténuazonique, stérigmatocystine
100	citrinine, rubratoxine B
60	PR toxine
50	déoxynivalénol, ochratoxine A, gliotoxine
25	patuline, acide cyclopiazonique, citréoviridine, verruculogène
10	pénitrem A, aflatoxine B1 ----- / hamster, souris
7	diacétoxyscirpénol, toxine T-2 / rat
5	fusarénone X / singe
2	/ cobaye
1	/ mouton, chien, chat
0,5	/ lapin, caneton, porc

Tableau 1 : Toxicité aiguë des principales mycotoxines par voie orale chez la souris et comparatif de toxicité entre espèces pour l'aflatoxine B1.

d'entraîner des accidents aigus, comme l'aflatoxine B1, la toxine T-2, le pénitrem ou la fusarénone X. Un comparatif particulier situe les différences de sensibilité de diverses espèces animales à l'aflatoxine B1 (en italique).

La découverte des aflatoxines remonte à l'élucidation de la maladie X du dindon apparue en 1961 en Angleterre, suite à la consommation par ces volailles, d'aliments contaminés par des tourteaux d'arachide importés et contenant de fortes teneurs en toxines. La symptomatologie comprenait une dégénérescence hépatique accompagnée d'une altération de la fonction des chondrocytes. En fait, l'hépatotoxicité est la caractéristique majeure de ces toxines et notamment de l'aflatoxine B1. Elle conduit à des carcinomes hépatocellulaires observés chez toutes les espèces, dont le cancer primitif du foie atteignant l'homme dans de nombreuses zones tropicales et sub-tropicales (MASSEY *et al.*, 1995). La mutagénicité de l'aflatoxine B1 a été démontrée, elle requiert une bioactivation hépatique par des cytochromes P450 résultant en la formation du AFB1 8,9-époxyde (figure 1). Le principal mode d'action toxique de cet époxyde est la formation d'adduits à l'ADN et à l'ARN en position N7 de la guanine, ayant pour conséquence l'altération de la synthèse d'acides nucléiques (transcription, blocage de l'ARN polymérase II) et de la synthèse peptidique (traduction, blocage de la synthèse des ARNr, ARNt et ARNm). L'AFB1 8,9-époxyde peut aussi se lier à des protéines (protéines nucléaires, liaison aux histones H3) et en modifier la structure et les fonctions comme l'altération du transport des électrons et de la respiration cellulaire (cytochromes b et c) (MCLEAN et DUTTON, 1995). Il semble que la liaison de AFB1 8,9-époxyde aux protéines, majoritairement sur les résidus lysine, portant une séquence de translocation nucléaire (NLS) aggrave les effets toxiques de la molécule par facilitation du transport à proximité de l'ADN.

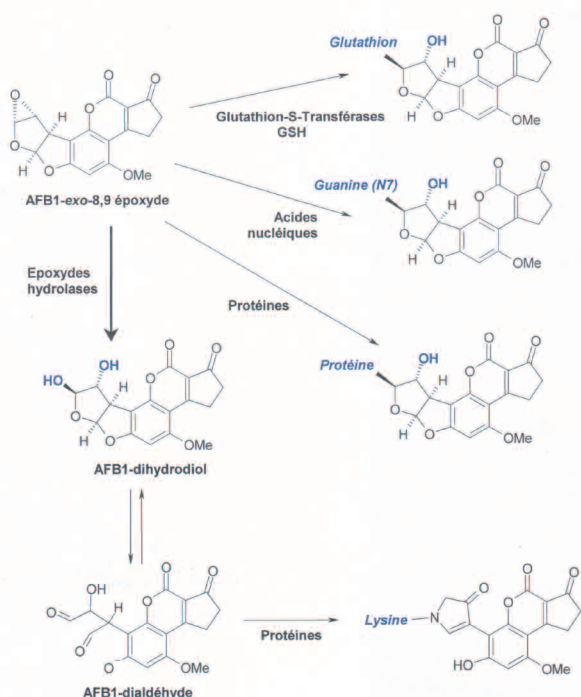


Figure 1 : Bioconversion de l'AFB1 *exo*-8,9-époxyde.

La conjugaison au glutathion est généralement considérée comme la voie majeure de détoxification des aflatoxines. De ce fait, la balance entre les voies d'activation et de détoxification est à intégrer dans l'explication des différences interspécifiques de sensibilité à l'aflatoxine B1, mais aussi dans les stratégies de limitations des risques, notamment par des inducteurs des voies spécifiques de détoxification (oltipraz, dithionites). En matière de toxicologie, la question essentielle est la connaissance des processus conduisant de nodules pré-néoplasiques au cancer. De nombreuses avancées ont été récemment réalisées et l'on sait actuellement que l'aflatoxine B1 est capable d'exercer à la fois l'activation des proto-oncogènes *ras* et d'inactiver par mutation génique le gène *p53* suppresseur de tumeurs (EATON et GALLAGHER, 1994).

L'ochratoxine A est reconnue comme l'agent causal d'une néphrite avec dégénérescence des tubules proximaux, identifiée en Scandinavie chez le porc et la volaille. Cause de nombreuses pertes économiques liées à la baisse de qualité des carcasses de porc, cette toxine s'est également avérée tératogène, hépatotoxique et immunotoxique chez les espèces de laboratoire. Chez l'homme, l'hypothèse de son implication dans la néphropathie endémique des Balkans a été émise par KROGH (1978) en raison des fortes teneurs rencontrées dans l'alimentation des populations locales. Des tumeurs rénales ayant été associées à cette pathologie, le caractère cancérogène de cette toxine a été étudié mais il n'existe pas suffisamment d'arguments scientifiques pour qu'elle soit classée par l'IARC comme agent cancérogène potentiel pour l'homme, à l'instar de l'aflatoxine B1.

Parmi les toxines fusariennes, les trichothécènes forment un groupe dont le déoxynivalénol, le nivalénol (type B), le diacétoxyscirpénol et la toxine T-2 (type A) sont les représentants les plus étudiés et recherchés. La toxine T-2 provoque de sévères intoxications avec ulcérations des muqueuses et de la peau, altération de la maturation des lignées sanguines et immunodépression. Elle pourrait être à l'origine de l'aleucie toxique alimentaire survenue après consommation de grains mal conservés sous la neige, voici 60 ans en URSS. Le diacétoxyscirpénol est caractérisé par des propriétés toxiques voisines de celles de la toxine T-2. En revanche, le déoxynivalénol, également immunotoxique, possède une toxicité aiguë bien inférieure, mais les teneurs rencontrées dans les céréales peuvent être 100 à 1000 fois supérieures. Un des problèmes de la toxicologie des trichothécènes est la méconnaissance actuelle du risque présenté par la multicontamination possible et probable d'une même denrée par plusieurs de ces toxines, les *Fusarium* étant à même de les élaborer simultanément.

La zéaralénone est une autre fusariotoxine, de nature lactone macrocyclique, dotée d'une forte affinité pour les récepteurs des œstrogènes. En raison de sa présence dans le maïs, elle est à l'origine d'un syndrome œstrogénique, fréquent chez le porc, avec tuméfaction vulvaire, vulvo-vaginite, prolapsus vaginal chez les jeunes, altération de la fertilité male et femelle chez les adultes.

Essentiellement produite par *F. verticilloides*, la fumo-

nisine B₁ est la plus intensément étudiée d'un groupe de diverses toxines de structure voisine des sphingolipides (RILEY *et al.*, 1998). Son inhibition vis-à-vis de la céramide synthase provoque une augmentation disproportionnée de sphinganine intracellulaire libre. La symptomatologie varie d'une espèce à l'autre, le plus sensible étant le cheval qui développe une leuco-encéphalomalacie et le porc atteint d'œdème pulmonaire. Dans tous les cas, y compris les espèces de laboratoire, la fumonisine B₁ déprime les systèmes immunitaires de défense de l'organisme. À ce titre, une série d'études a été réalisée afin d'analyser les effets de la fumonisine B₁ sur les systèmes de défense du porcelet. En effet, de par son alimentation riche en céréales, le porc est naturellement exposé à cette mycotoxine. De plus, les similitudes entre les systèmes immunitaire et digestif de l'homme et du porc font qu'il représente un bon modèle pour l'homme. Nous avons étudié les effets de cette toxine au niveau local (tube digestif) et au niveau systémique (rate, foie et poumon), en associant les résultats obtenus lors d'intoxications expérimentales à ceux obtenus au cours d'études *in vitro* sur des cellules porcines, afin de déterminer le mode d'action de la toxine. En fait, il s'avère que la fumonisine B₁ agit sur la réponse immunitaire des porcelets en perturbant en particulier la synthèse de cytokine (figure 2). Au niveau de l'intestin, cette toxine diminue la synthèse d'IL-8 par les cellules épithéliales intestinales et perturbe leur fonction de barrière. Ces altérations peuvent expliquer la sensibilité accrue des porcelets aux infections entériques (OSWALD *et al.*, 2003). Au niveau systémique, cette mycotoxine augmente la synthèse de cytokine inflammatoire, et celle des cytokines de type Th1. *In vitro*, la FB₁ inhibe de façon dose dépendante la prolifération lymphocytaire et elle altère la production de cytokines par ces cellules. Elle augmente la synthèse d'interféron gamma (cytokine de type Th1 impliquée dans la réponse à médiation cellulaire) et diminue celle d'IL-4 (cytokine Th2 impliquée dans la réponse à médiation humorale). Une diminution concomitante de la synthèse des cytokines du type Th2 est également observée. L'induction de cytokines inflammatoires pourrait expliquer la prédisposition des animaux aux infections pulmonaires et le déséquilibre de la balance cytokine Th1/Th2, la diminution de la réponse

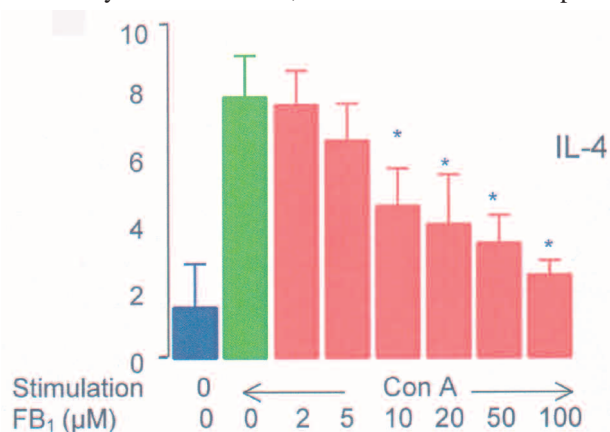


Figure 2 : Diminution de synthèse d'IL4 par diverses concentrations de fumonisine B1 sur des lymphocytes de porc stimulés par la concanavaline A.

d'anticorps lors d'une vaccination.

Chez l'homme, la contamination alimentaire par cette toxine est corrélée à l'apparition de cancers de l'œsophage dans divers pays d'Afrique australe. Au plan expérimental, bien que non mutagène, cette toxine pourrait se révéler carcinogène comme le démontrent des études entreprises chez les rongeurs (GELDERBLOM *et al.*, 1991).

Mycotoxicooses aiguës et subaiguës diagnostiquées en élevage

Le relevé des accidents mycotoxiques procède de l'inventaire effectué par LE BARS et LE BARS (1996). Les métabolites zoo-toxiques incriminés dans ces pathologies sont des mycotoxines proprement dites ou des produits de réaction de la plante à l'agression fongique (coumestrol).

Essentiellement identifiée chez le cheval consommant de la paille contaminée par *Stachybotrys atra*, la stachybotryotoxicose, réputée comme maladie des pays froids, peut aussi survenir dans les régions à climat doux. Un large éventail de symptômes et lésions ont été observés, depuis une réduction des performances chez le cheval de course jusqu'à un syndrome hémorragique généralisé, selon les concentrations en satratoxine, un trichothécène macrocyclique de grande toxicité. En raison de fortes contaminations en fumonisines, des cas de leuco-encéphalomalacie des équidés ont été caractérisés par des lésions de démyélinisation de la substance blanche encéphalique, associés à une forte contamination de maïs par *F. verticilloides*.

L'eczéma facial des ruminants se manifeste par une photosensibilisation secondaire à une atteinte hépatique affectant surtout les ovins. Elle est consécutive à l'ingestion de sporidesmines élaborées par *Pithomyces chartarum* se développant sur l'herbe morte lors d'automnes pluvieux. Chez les bovins, des cas de gangrène sèche due à la fétuque ont été diagnostiqués ; ils étaient provoqués par les alcaloïdes – proches de ceux de l'ergot de seigle – élaborés par l'endophyte *Acremonium*.

D'autres accidents se rapportaient à la reproduction : diminution des portées, échec de fécondation, irrégularité des cycles, infertilité, avortements. Chez les ruminants, des accidents nerveux parfois accompagnés d'avortements, de mortalité ou de mycoses invasives ont été associés à la contamination de pulpes de betterave par *P. roqueforti* ou de foin par *A. fumigatus*. Dans ces cas, le diagnostic mycotoxique demeure difficile en raison du grand nombre de toxines élaborées par ces moisissures et de l'absence de méthodologies analytiques fiables et rapides pour leur dosage.

Transfert des mycotoxines dans les produits animaux

Comme toutes substances xénobiotiques, les mycotoxines subissent des biotransformations dans les organismes animaux ou humains (tableau 2). Ces bioconversions siègent essentiellement dans le foie et au niveau du tractus gastro-intestinal ; elles sont la conséquence de l'action d'enzymes tissulaires

mycotoxine	oxydation	réduction ou hydrolyse	conjugaisons
aflatoxine B1	époxyde aflatoxine M1 aflatoxine P1 aflatoxine Q1	aflatoxicol	époxyde (glutathion)
ochratoxine A (OTA) T-2 toxine (T-2)	4 / 10 hydroxyOTA 3'OH T-2 3'OH HT-2 3',7diOH T-2 3',7diOH HT-2	ochratoxine α HT-2 toxine néosolaniol T-2 triol T-2 tétraol dérivés déépoxydés	HT-2 toxine néosolaniol T-2 triol T-2 tétraol
déoxynivalénol (DON) zéaralénone fumonisine B1 (FB1) acide pénicillique	époxyde	DON déépoxydé (DOM-1) α et β zéaralénols monoester FB1 aminopentol FB1	acide pénicillique

Tableau 2 : Biotransformations subies par les mycotoxines dans les milieux biologiques.

ou de la microflore. Les métabolites formés correspondent le plus souvent à des produits d'oxydation d'origine hépatique, tels que les hydroxy-aflatoxines (aflatoxines M1, P1, Q1) ou les hydroxy-ochratoxines en position 4 ou 10. Les estérases participent à la formation de nombreux dérivés d'hydrolyse des trichothécènes ou de la fumonisine B₁ qui, comme les précédents, conservent une part non négligeable de la toxicité des toxines d'origine. Dans le cas de la zéaralénone, les dérivés essentiels sont les zéaralénols formés par les hydroxystéroïdes déshydrogénases hépatiques et dont l'isomère α possède la véritable activité œstrogène. Les transférases hépatiques et intestinales sont impliquées dans la conjugaison des métabolites déjà mentionnés ; elles sont généralement considérées comme des enzymes de détoxification en participant à l'élimination des toxines sous forme de composés hydrosolubles : glucurono-conjugués des trichothécènes désacétylés ou des hydroxyaflatoxines, conjugués au glutathion des époxydes réactifs (aflatoxines, acide pénicillique). De toute première importance dans le cas des ruminants, les flores microbiennes participent généralement à la désactivation des dérivés toxiques telle que l'hydrolyse de l'ochratoxine A en ochratoxine α ou encore la désépoxydation des trichothécènes.

Cet aperçu permet de situer l'importance des biotransformations qui vont, en fait, orienter le statut des résidus de toxines ou de métabolites toxiques pouvant être retrouvés, après consommation par l'animal d'élevage, dans les tissus (abats, muscles) ou les produits d'excrétion (lait, œufs) consommables par l'homme (GALTIER, 1998).

Dans le cas de l'aflatoxine B1, l'essentiel des résidus se situent dans le foie et à un degré moindre dans les reins. Chez les ruminants, ces organes peuvent receler des concentrations mesurables en aflatoxine M1. L'ochratoxine A non métabolisée se retrouve à l'état de résidus, par ordre décroissant, dans les reins, le foie, les muscles et la graisse des porcs et de la volaille. Chez les bovins, seule l'administration de doses massives et irréalistes a conduit à l'observation de teneurs mesurables en ochratoxines A et α , dans les reins de bovins. Si les trichothécènes ne semblent pas poser de problème en termes de résidus tissulaires, la zéaralénone pourrait s'avé-

rer préoccupante chez le porc ou la volaille susceptible de présenter des concentrations hépatiques élevées en toxine parentale ou en α -zéaralénol. Concernant la fumonisine B₁, la plupart des études toxicocinétiques démontrent une absorption gastro-intestinale limitée de cette molécule et un faible transfert vers les compartiments internes. Une étude chez les bovins recevant une alimentation contaminée par 500 ppm de toxine fait état de résidus significatifs mesurés dans le tissu hépatique.

Concernant le passage des toxines dans le lait de vache, le **tableau 3** résume les informations représentatives des connaissances actuelles. À la vue de ces résultats, il est clair que la présence d'aflatoxine M1 dans le lait a rapidement constitué une source de risque alimentaire, d'autant plus que ce métabolite développe les mêmes propriétés cancérigènes que la toxine parentale. De nombreuses enquêtes ont d'ailleurs démontré la contamination naturelle de laits par l'aflatoxine M1 (PITTET, 1998). Ces observations ont conduit à proscrire les tourteaux d'arachide de l'alimentation animale et notamment des bovins laitiers. La situation paraît également préoccupante dans le cas de l'ochratoxine A retrouvée dans le lait maternel humain et de la zéaralénone qui pourrait diffuser dans le lait sous la forme de ses métabolites zéaralénols, avec d'assez sensibles variations selon les modèles expérimentaux adoptés.

De nombreuses études attestent du transfert possible de mycotoxines ou de leur métabolites dans les œufs, à l'exception de l'ochratoxine A et de la fumonisine B₁ indétectables. L'ordre de grandeur se situe à un rapport de 1:1000 entre les concentrations dans l'aliment contaminé et celles contenues dans le blanc ou le jaune, 24 heures après la fin de l'exposition. Bien sûr, un tel rapport décroît rapidement dans le temps. Les valeurs les plus critiques sont obtenues dans le cas de poules recevant l'aflatoxine B1 à raison de 15 ppm dans l'alimentation. Toutefois, le biais généralement observé pour de telles études consiste en l'utilisation de doses importantes de toxines indispensables pour assurer l'application des méthodes de dosage des résidus dans les constituants de l'œuf, ou encore en l'usage de toxines radiomarquées pour lesquelles

toxine	dose*/durée	formes retrouvées	concentration
aflatoxine B1	0,35 mg/kg/3 j	aflatoxine M1	0,10 ppb
déoxynivalénol	1,8 mg/kg/1 j	déoxynivalénol	< 4 ppb
déoxynivalénol	66 ppm	déépoxy-DON	30 ppb
fumonisine B ₁	3 mg/kg/14 j	fumonisine B ₁	0
ochratoxine A	50 mg/4 j	ochratoxine α	150 ppb
ochratoxine A	1 g/4 j	ochratoxine A	100 ppb
		ochratoxine α	700 ppb
toxine T-2	50 ppm/15 j	toxine T-2	10-160 ppb
zéaralénone	25 ppm/7 j	zéaralénone	481 ppb
		α-zéaralénol	508 ppb
		β-zéaralénol	370 ppb
zéaralénone	40 ppm/21 j	zéaralénone	2,5 ppb
		α-zéaralénol	3 ppb

Tableau 3 : Résidus de mycotoxines dans le lait de vache.

(* doses exprimées en mg/kg de poids corporel ou en ppm de toxine contenue dans l'aliment distribué aux animaux.)

toxine	règlement	aliment	teneurs limites
<u>Alimentation humaine :</u>	466/2001 et 257/2002	céréales et dérivés	2 à 4 µg/kg
aflatoxine B1	472/2002	arachides, fruits	2 à 15 µg/kg
		épices	5 à 10 µg/kg
aflatoxine M1	257/2002	lait	0,05 µg/kg
ochratoxine A	472/2002	céréales, fruits, vin	5 à 10 µg/kg
patuline	1425/2003	pommes et dérivés	10 à 50 µg/kg
déoxynivalénol	856/2005	céréales et dérivés	200 à 1750 µg/kg
fumonisines	856/2005	céréales et dérivés	200 à 2000 µg/kg
zéaralénol	856/2005	céréales et dérivés	20 à 200 µg/kg
toxine T-2	856/2005	céréales et dérivés	en attente
<u>Alimentation animale :</u>			
aflatoxines	32/2002	céréales, autres	5 à 50 µg/kg
ergot de seigle		céréales	1000 mg/kg

Tableau 4 : Principales réglementations européennes concernant les teneurs limites en mycotoxines dans l'alimentation humaine et animale.

le résidu correspond à un marquage isotopique certes mesurable mais non identifié au sens chimique du terme (cas du déoxynivalénol, de la toxine T-2 et de la zéaralénone).

• CONNAISSANCE DES RISQUES ET PERSPECTIVES DE RECHERCHE

Nature et gestion des risques encourus

Issues d'une contamination généralement reconnue comme d'origine végétale, les mycotoxines constituent un problème très actuel de qualité et de sécurité des aliments. Aussi, la mise en place de réglementations est intervenue depuis plusieurs années à propos de l'ergot de seigle, des aflatoxines, de l'ochratoxine A et de la patuline, que ce soit pour l'alimentation humaine ou animale (aflatoxines, ergot). Elle est désormais en voie d'application pour les toxines des *Fusarium* : déoxynivalénol, T-2 toxine, fumonisines et zéaralénone (tableau 4).

De fait, la toxicité de ces contaminants naturels peut être directe ou indirecte vis à vis des organismes consommant des denrées alimentaires contaminées. Certaines mycotoxines ont une toxicité aiguë très marquée (exposition unique à une forte dose), mais il est exceptionnel, en Europe, d'être exposé à des doses toxiques en une seule ingestion d'aliments contaminés. Dans tous les cas, les effets chroniques (exposition répé-

tée à de faibles, voire très faibles doses) sont les plus redoutés en raison des habitudes alimentaires et du pouvoir de rémanence de ces toxines, souvent résistantes aux températures et aux procédés technologiques mis en œuvre dans l'industrie alimentaire.

La toxicité est variable, certaines mycotoxines sont reconnues ou suspectées d'être cancérigènes (aflatoxines, ochratoxine A, fumonisines). Certaines toxines exercent un pouvoir hépatotoxique (aflatoxines), d'autres sont œstrogéniques (zéaralénone), immunotoxiques ou hématotoxiques (patuline, trichothécènes, fumonisines), dermonécrosantes (trichothécènes), néphrotoxiques (ochratoxine A) ou neurotoxiques (toxines trémorgènes). En outre, plusieurs mycotoxines peuvent être présentes dans le même produit ou la même ration alimentaire.

Pour les consommateurs humains, un autre type de risque indirect est la présence possible de résidus dans les productions issues d'animaux de rente exposés à une alimentation contaminée. Ces résidus correspondent à la toxine elle-même ou à des métabolites bioformés et conservant les propriétés toxiques du dérivé parental. Les espèces d'élevage peuvent donc constituer un vecteur de ces toxines ou de leurs métabolites dans des productions telles que la viande, le lait ou les œufs. C'est le cas notamment de l'aflatoxine B1, dont le métabolite l'aflatoxine M1 est retrouvé dans le lait des mammifères

lorsque ceux-ci ont ingéré des aliments contaminés par l'aflatoxine B1. Leur capacité à se lier aux protéines plasmatiques et leur lipophilie en font des toxiques capables de s'accumuler dans l'organisme en cas d'expositions répétées et rapprochées.

L'évaluation du risque mycotoxique demeure délicate. En effet, ce risque est d'essence naturelle, l'homme n'en maîtrisant pas la survenue (conditions climatiques notamment), il est pernicieux car la contamination fongique est difficilement contrôlable et enfin il peut être multiple en raison de la capacité d'une même moisissure à produire différentes mycotoxines. En effet, plusieurs toxines d'une même famille structurale ou présentant des structures différentes peuvent se retrouver dans le même produit alimentaire. Cette situation naturelle pose cependant des problèmes car les recherches menées sur les synergies possibles demeurent difficiles.

Perspectives de recherche et questions scientifiques

Devant ce constat, il convient de mettre en place des moyens de connaissance relatifs à l'appréciation des expositions de l'homme et des animaux d'élevage mais aussi à la détermination des dangers potentiels afin d'argumenter encore la définition des risques encourus et de pouvoir les gérer ensuite.

La première dynamique doit concerner la connaissance de l'état des contaminations naturelles des aliments par les mycotoxines ou leurs dérivés toxiques. A ce propos, un manque réel d'informations, ouvertes à tous par voie de publications, caractérise depuis toujours cette problématique. Cela est d'autant plus dommageable que les mycotoxines sont des toxiques d'origine naturelle dont la dissémination est sporadique et souvent liée à la climatologie. Même si cette activité relève plus des plans de surveillance que de programmes scientifiques, elle n'en constitue pas moins la base de réflexion pour mesurer les expositions de l'homme et des animaux d'élevage à ces toxines. Dans ce domaine, un autre objet de recherche est la mise à disposition de méthodes d'échantillonnage et de dosages, particulièrement dans les matrices hétérogènes comme les grains de céréales.

La toxinogenèse des moisissures constitue une préoccupation scientifique très actuelle en raison des approches génomiques et métaboliques actuellement entreprises sur les voies de biosynthèse des toxines. En effet, il est devenu possible de connaître par clonage et séquençage, les gènes codant des protéines enzymatiques ou de transport, essentielles dans la production des mycotoxines. Cette approche conduit à des perspectives en termes de détection génétique des souches réellement toxiques mais aussi de sélection future d'antifongiques spécifiques venant interférer sélectivement avec des étapes clés de ces biosynthèses.

La qualification des dangers mycotoxiques est une quête permanente en matière de sécurité sanitaire des aliments. À propos des mycotoxines, la mise en évidence des dangers cancérogènes, perturbateurs endocriniens ou immunotoxiques, devrait être optimisée dans le futur par l'application des nouvelles approches de toxicologie moléculaire, alors qu'elle appa-

raît comme une priorité en raison de la démonstration épidémiologique de l'importance des pathologies d'origine cancéreuse, endocrinienne et infectieuse dans nos populations. Le souci des toxicologues porte également sur une meilleure prise en compte du risque mycotoxique en élevage car l'état sanitaire des cheptels est plus que jamais surveillé, alors que de nouvelles conditions d'élevage (élevage extensif, usage de litière pour les porcs,...) apparaissent et peuvent conduire à des problèmes mycosiques ou mycotoxiques non avérés jusqu'ici.

Les produits animaux étant proposés à la consommation humaine, une question scientifique d'importance est la connaissance du devenir des toxines dans ces produits (viandes, graisses, abats, lait, œufs). En effet, la sophistication des méthodes analytiques permet désormais de rechercher des traces de dérivés toxiques dans les matrices biologiques. Aussi, la demande actuelle porte sur une recherche de résidus, dans les tissus consommables d'animaux soumis à des expositions expérimentales dont le niveau corresponde aux contaminations alimentaires relevées. La réactualisation des données est essentielle dans ce domaine. En complément, un manque d'informations subsiste dans le domaine du transfert éventuel des mycotoxines tout au long de la chaîne alimentaire et en particulier, de leur résistance au cours des procédés technologiques d'élaboration de l'aliment final (fermentation, cuisson, stockage,...).

La meilleure connaissance de l'exposition de l'homme aux mycotoxines est essentielle pour apprécier le risque encouru. L'un des objets de recherche majeur doit être la détermination des populations à risques (enfants, personnes âgées, végétariens, immunodéprimés, consommateurs d'alimentation biologique,...) afin que des mesures puissent être prises pour protéger ces sujets des dangers supposés. Dans ce sens, l'approche épidémiologique doit être basée sur une démarche réfléchie capable de corréler la consommation alimentaire et la réponse de bio-indicateurs avérés d'exposition ou d'effet. Une étude d'exposition de la population française vient d'être réalisée (LEBLANC *et al.*, 2005) à partir de la consommation de rations types et de l'occurrence possible des diverses toxines dans les aliments. Elle démontre que les céréales et les produits dérivés constituent les principaux vecteurs de contamination alimentaire mycotoxique dans notre pays.

Bien que peu étudié en Europe, un nouveau risque mycotoxique a été identifié, il s'agit de l'exposition environnementale à ces toxines ou leurs résidus. Si la présence de traces dans les déchets animaux (lisiers, litières,...) devrait être anecdotique, le risque sanitaire de toxines contenues dans les spores fongiques semble une menace réelle particulièrement pour des travailleurs exposés dans leur environnement professionnel (compostage, agriculture) ou domestique (logements anciens). De fait, outre le risque mycosique, il est maintenant bien connu que certaines toxines peuvent être véhiculées par les spores et pourraient exercer leur toxicité après une exposition par voie aérienne.

Enfin, nous distinguerons le cas des situations nouvelles liées soit à une meilleure connaissance de ce type de contaminants

soit à la prise en compte des évolutions. Ces dernières années nous ont convaincu de la présence de métabolites secondaires fongiques insoupçonnés et dont les caractères délétères devront être étudiés par des approches toxicologiques raisonnées. Il en va ainsi des toxines des *Alternaria* ou de moisissures pathogènes pour l'homme et les animaux comme *Aspergillus fumigatus*. Par ailleurs, des substrats alimentaires réputés sanitaires sûrs comme les jus de fruits se sont avérés porteurs de contaminations possibles par l'ochratoxine A ou la patuline. Enfin, l'évolution climatologique vers un réchauffement planétaire doit être prise en compte, comme en atteste la plus grande prévalence de toxines aspergillaires dans les céréales enregistrée en Italie, à la suite des fortes chaleurs de l'été 2003.

• CONCLUSION

En conclusion, les priorités scientifiques devront se définir en considérant d'une part l'état effectif des connaissances relatives aux mycotoxines et d'autre part, le degré d'acuité des problèmes sanitaires suspectés ou réellement posés.

Les fusariotoxines constituent actuellement le sujet principal d'intérêt des recherches entreprises en raison de leur découverte récente (fumonisines), de la mise à disposition récente de moyens performants de détection (trichothécènes), et surtout de leur occurrence avérée dans les productions végétales. À ce titre, de nombreuses lacunes existent dans leur connaissance, notamment en matière de toxigenèse et d'applications en termes de traitements phytosanitaires sélectifs. Il en va de même pour la qualification exacte de leur danger, en situation de faible contamination ou de contamination multiple (trichothécènes, fumonisines et/ou zéaralénone). De plus, l'appréciation de leur présence à l'état de résidu dans les produits animaux devra être engagée sur des modèles exposés à des contaminations alimentaires représentatives de la réalité.

Le même problème du danger non déterminé par association de toxines co-occurentes peut se retrouver avec les toxines produites par des *Aspergillus* ou des *Penicillium*, notamment l'ochratoxine A, la patuline ou la citrinine. D'une façon générale, la communauté en charge d'apprécier les risques sanitaires est très intéressée par des recherches

concernant le problème de la contamination multiple entre mycotoxines, voire entre mycotoxines et d'autres contaminants alimentaires (pesticides, métaux lourds, hydrocarbures polycycliques,...). Il existe également une forte demande sur la qualification réelle du danger des faibles expositions appliquées sur le moyen, voire le long terme, à l'aide de modèles pertinents et adaptés.

Dans le domaine de la toxicologie, certaines hypothèses devront être confirmées ou écartées, notamment le caractère perturbateur endocrinien de diverses mycotoxines (zéaralénone, patuline), la toxicité éventuelle des toxines d'*Alternaria* et leur communauté d'effet avec les fusariotoxines, le danger effectif des toxines présentes dans l'environnement aérien dans le cas de situations professionnelles ou domestiques particulières.

Enfin, la mise en évidence de bioindicateurs d'effet ou d'exposition, devenue possible désormais par l'appoint récent des méthodes à haut débit (transcriptomique, protéomique, métabolomique), devrait apporter des arguments nouveaux dans l'appréciation épidémiologique des expositions et des risques encourus par les consommateurs, et notamment de certaines populations à risque.

BIBLIOGRAPHIE

- EATON DL, GALLAGHER EP (1994) Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **34**, 135-172.
- GALTIER P (1998) Biological fate of mycotoxins in animals. *Rev. Med. Vétér.*, **149**, 549- 554.
- GELDERBLOM WCA, KRIEK NPJ, MARASAS WHO, THIEL PG (1991) Toxicity and carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B1 in rats. *Carcinogenesis*, **12**, 1247-1251.
- KROGH P (1978) Causal association of mycotoxic nephropathy. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **269** (suppl), 1-28.
- LEBLANC JC, TARD A, VOLATIER JL, VERGER P (2005) Estimated dietary exposure to principal food mycotoxins from the first french total diet study. *Food Add. Contamin.*, **22**, 652-672.
- LE BARS J, LE BARS P (1996) Recent acute and subacute mycotoxicoses recognized in France. *Vet. Res.*, **27**, 383-394.
- MASSEY TE, STEWART R.K, DANIELS J, LIU L (1995) Biochemical and molecular aspect of mammalian susceptibility to aflatoxin B1 carcinogenicity. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **208**, 231-237.
- MCLEAN M., DUTTON MF (1995) Cellular interactions and metabolism of aflatoxin: an update. *Pharmac. Ther.*, **65**, 163-192.
- OSWALD IP, DESAUTELS C, LAFITTE J, FOURNOUT S, PERES SY, ODIN M., LE BAES P, LE BARS J, FAIRBROTHER JM (2003) The mycotoxin, fumonisin B1 increases intestinal colonization by pathogenic *Escherichia coli* in pigs. *Appl. Env. Microbiol.*, **69**, 5870-5874.
- PITTET A (1998) Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds. An update review. *Rev. Med. Vétér.*, **149**, 479-492.
- RILEY RT, VOSS KA, NORRED WP, SHARMA RP, WANG E, MERRIL AH (1998) Fumonisin : mechanism of mycotoxicity. *Rev. Med. Vétér.*, **149**, 617-626.

