



HAL
open science

Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé

Alban Gauthier

► **To cite this version:**

Alban Gauthier. Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé. Sciences pharmaceutiques. 2016. dumas-01315198

HAL Id: dumas-01315198

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01315198>

Submitted on 12 May 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Bordeaux

U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2016

Thèse N° 43

Thèse pour l'obtention du

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Le 26 avril 2016

Par

Alban GAUTHIER

Né le 16 février 1988 à Paris 12^{ème} (75)

Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé

Directeur de thèse

Docteur Alain DECENDIT

Membres du jury

Dr. Alain DECENDIT	Maître de Conférences	Président
Pr. Jean-Michel MÉRILLON	Professeur des Universités	Juge
Dr. Marc DUFRENNE	Docteur en Pharmacie	Juge

Université de Bordeaux

U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2016

Thèse N° 43

Thèse pour l'obtention du

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Le 26 avril 2016

Par

Alban GAUTHIER

Né le 16 février 1988 à Paris 12^{ème} (75)

Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé

Directeur de thèse

Docteur Alain DECENDIT

Membres du jury

Dr. Alain DECENDIT	Maître de Conférences	Président
Pr. Jean-Michel MÉRILLON	Professeur des Universités	Juge
Dr. Marc DUFRENNE	Docteur en Pharmacie	Juge

Remerciements

A Monsieur Decendit qui a accepté de me guider dans ce travail, et qui me fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Merci pour vos conseils et votre bienveillance.

A Monsieur Mérillon qui me fait l'honneur de composer ce jury.

A Monsieur Dufrenne qui me fait également l'honneur de juger mon travail. Merci de m'avoir transmis votre savoir et vos compétences en m'accueillant si gentiment au sein de votre pharmacie.

A Madame Thibault et à toute l'équipe de la pharmacie Marbotin avec qui j'ai passé de très bons moments et qui m'ont beaucoup appris.

A mes parents et mes frères qui m'ont soutenu tout au long de mes études.

A mes amis avec lesquels j'ai passé de très bonnes années de fac.

Sommaire

Sommaire	4
Liste des abréviations	8
Liste des figures.....	10
Introduction.....	12
Partie 1 : Étude bibliographique.....	13
I. Définitions	13
A. Moisissure	13
B. Mycotoxine	14
II. Mycotoxinogenèse	15
A. Généralités.....	15
B. Facteurs physiques.....	15
1. Activité de l'eau.....	15
2. Température	16
3. Lumière.....	17
C. Facteurs chimiques	17
1. Acidité du milieu - pH.....	17
2. Composition gazeuse	18
3. Nature du substrat	18
4. Traitement chimique du milieu	18
D. Facteurs biologiques	19
1. Facteurs intrinsèques	19
2. Interactions entre micro-organismes.....	19
3. Présence d'acariens et insectes	19
4. Pratiques agricoles	20
III. Champignons toxigènes	20
A. Généralités sur les mycètes	20
1. Classification des mycètes.....	20
2. Caractères morphologiques des champignons	21
3. Reproduction des mycètes.....	23
B. Principales moisissures toxigènes.....	24
1. Genre <i>Penicillium</i>	24
2. Genre <i>Aspergillus</i>	26
3. Genre <i>Fusarium</i>	28
4. Genre <i>Alternaria</i>	30

5.	Genre <i>Claviceps</i>	32
IV.	Présentation des mycotoxines	34
A.	Généralités	34
B.	Principales mycotoxines.....	36
1.	Aflatoxines.....	36
2.	Ochratoxines	40
3.	Fumonisines	46
4.	Zéaralénone.....	51
5.	Alcaloïdes de l'ergot du seigle.....	54
6.	Trichothécènes.....	60
7.	Patuline	66
C.	Quelques autres mycotoxines	69
1.	Citrinine	69
2.	Acide cyclopiazonique	70
3.	Mycotoxines trémorgènes	70
4.	Stérigmatocystine.....	70
5.	Sporidesmines	71
6.	Phomopsines	71
7.	Toxines du genre <i>Alternaria</i>	72
8.	Stachybotryotoxines.....	72
	Partie 2 : Dans l'industrie agro-alimentaire	73
I.	Origine	73
A.	Conditions de contamination.....	73
B.	Répartition géographique des principales mycotoxines.....	74
C.	Les principales denrées concernées	75
1.	Les céréales	75
2.	Les fruits et légumes	75
3.	Les produits laitiers	75
4.	Les oléagineux	76
5.	La viande et les charcuteries	76
6.	Filière viticole	76
D.	Synthèse.....	77
II.	Évaluation du risque chez l'Homme.....	78
A.	Estimation de la Dose Journalière Admissible (DJA).....	78
B.	Réglementation en alimentation humaine	78
III.	Impact économique	80

A.	Sur l'agriculture.....	80
B.	Sur l'élevage.....	80
Partie 3 :	Incidence sur la santé humaine	81
I.	Rappels.....	81
A.	Voie de contamination.....	81
B.	Les risques.....	81
1.	Les allergies	81
2.	Les mycoses.....	81
3.	Le mycétisme.....	82
4.	Les mycotoxicoses.....	83
II.	Manifestations cliniques	83
A.	Lésions causées par les mycotoxines.....	83
B.	Implication avérée des mycotoxines dans des épidémies humaines.....	84
1.	Néphropathie Endémique des Balkans	84
2.	Ergotisme	87
3.	Aleucie Toxique Alimentaire	90
4.	Hépatocarcinome.....	92
C.	Implication supposée des mycotoxines dans des maladies humaines.....	93
1.	Maladie de Kaschin-Beck.....	93
2.	Kwashiorkor.....	94
3.	Quelques autres pathologies pouvant être dues à des intoxications fongiques	95
Partie 4 :	Moyens de lutte.....	97
I.	Analyse et surveillance.....	97
A.	Généralités.....	97
B.	Échantillonnage.....	97
C.	Détection et quantification des moisissures toxigènes.....	98
1.	Limites	98
2.	Principe de la PCR.....	99
3.	Le déroulement de la PCR	99
D.	Méthodes d'analyse des mycotoxines.....	100
1.	Généralités	100
2.	Description des méthodes physico-chimiques.....	100
3.	Méthodes immunologiques	101
E.	Analyse des biomarqueurs d'exposition chez l'Homme.....	102
II.	Procédés mis en œuvre dans la lutte contre les mycotoxines.....	103
A.	Rappels.....	103

B.	Lutte contre la croissance fongique.....	105
1.	Avant la récolte	105
2.	Pendant la récolte	109
3.	Après la récolte	109
4.	À la transformation par les industriels.....	110
5.	Mesures sanitaires à respecter par le consommateur.....	112
C.	Méthodes de détoxification ou de décontamination des aliments.....	113
1.	Traitements chimiques.....	113
2.	Traitements physiques	114
3.	Traitements biologiques.....	115
	Conclusion	116
	Annexes.....	117
	Bibliographie.....	120

Liste des abréviations

- 5-HT** : 5-hydroxytryptamine (Sérotonine).
- ADN** : Acide Désoxyribonucléique.
- AF** : Aflatoxines.
- AFB** : Aflatoxine B pour *Aflatoxin Blue*.
- AFG** : Aflatoxine G pour *Aflatoxin Green*.
- AFM** : Aflatoxine M pour *Aflatoxin Milk*.
- AFSSA** : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.
- ARN** : Acide Ribonucléique.
- ATA** : Aleucie Toxique Alimentaire.
- ATP** : Adénosine TriPhosphate.
- A_w** : *Activity of Water* (Activité de l'eau).
- BPCO** : Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive.
- Bt** : *Bacillus thuringiensis*.
- CCM** : Chromatographie sur Couche Mince.
- CIRC** : Centre International de Recherche sur le Cancer.
- CLHP** : Chromatographie Liquide à Haute Performance.
- CMA** : Concentration Maximale Autorisée (ou Admissible).
- CO₂** : Dioxyde de carbone.
- CPA** : Acide cyclopiazonique.
- CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuse.
- CYP1A2** : Cytochrome P1A2.
- CYP450** : Cytochromes P450.
- DAS** : Diacétoxyscirpénol.
- DJA** : Dose Journalière Admissible (ou Autorisée).
- DJT** : Dose Journalière Tolérée.
- DLC** : Date Limite de Consommation.
- DLUO** : Date Limite d'Utilisation Optimale.
- DOM-1** : Dé-époxy-déoxynivalénol.
- DON** : Déoxynivalénol.
- DRO** : Dérivés Réactifs de l'Oxygène.
- DSETO** : Dose Sans Effet Toxique Observable.

EFSA : *European Food Safety Authority* (Autorité Européenne de Sécurité des Aliments).

ELISA : *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (Dosage immuno-absorption par enzyme liée).

FAO : *Food and Agriculture Organization* (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture).

FA/FB/FC/FP : Fumonisines A, B, C et P.

FDA : *Food and Drug Administration* (Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux).

F-X : Fusarénone-X.

IL2 : Interleukine 2.

JECFA : *Joint Expert Committee of Food and Additives* (Comité d'experts FAO/OMS sur les additifs alimentaires).

MKB : Maladie de Kaschin-Beck.

NEB : Néphropathie Endémique des Balkans.

NIV : Nivalénol.

O₂ : Dioxygène.

OGM : Organisme Génétiquement Modifié.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

OT α : Ochratoxine α .

OTA : Ochratoxine A.

OTB : Ochratoxine B.

OTC : Ochratoxine C.

PCR : *Polymerase Chain reaction* (Réaction en chaîne par polymérase).

pH : Potentiel Hydrogène.

SHBG : *Sex Hormon-Binding Globulin* (Globuline liée aux hormones sexuelles).

Sp/spp : *Specie/Species*.

TCT : Trichothécènes.

UHT : Ultra-Haute Température.

UV : Ultraviolet.

VHB : Virus de l'Hépatite B.

VIH : Virus de l'Immunodéficiência Humaine.

ZAN : Zéaralanone.

ZEA : Zéaralénone.

Liste des figures

Figure 1 : <i>Penicillium roqueforti</i> dans du fromage.....	13
Figure 2 : Pomme contaminée par <i>Penicillium expansum</i>	13
Figure 3 : Plant de tomates contaminé par <i>Fusarium sp</i>	14
Figure 4 : Épis de maïs contaminés par <i>Aspergillus flavus</i>	14
Figure 5 : A_w minimum et maximum de plusieurs espèces d' <i>Aspergillus</i> et de <i>Penicillium</i>	16
Figure 6 : Températures de croissance de quelques espèces d' <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> et <i>Fusarium</i>	16
Figure 7 : Impact de la restriction d' O_2 sur <i>Fusarium proliferatum</i> et la production de FB_1 ...	18
Figure 8 : Toxines sécrétées par les principaux genres de moisissures.....	20
Figure 9 : Observation microscopique du mycélium de <i>Penicillium sp</i>	21
Figure 10 : Conidies d' <i>Aspergillus sp</i>	Erreur ! Signet non défini.
Figure 11 : Schéma récapitulatif des deux modes de reproduction chez les Ascomycètes	23
Figure 13 : Schéma des différentes dispositions de verticilles chez <i>Penicillium sp</i>	24
Figure 12 : <i>P. notatum</i> au microscope électronique.....	24
Figure 14 : Quelques toxines produites suivant l'espèce de <i>Penicillium</i>	25
Figure 15 : Observation microscopique et schéma d'une tête aspergillaire.....	26
Figure 16 : Quelques toxines produites suivant l'espèce d' <i>Aspergillus</i>	27
Figure 17 : Observation microscopique de l'appareil végétatif de <i>Fusarium verticillioides</i> et de macroconidies de <i>Fusarium graminearum</i>	29
Figure 18 : Quelques toxines produites suivant l'espèce de <i>Fusarium</i>	30
Figure 19 : Observation au microscope d' <i>Alternaria alternata</i>	31
Figure 20 : Quelques toxines produites suivant l'espèce d' <i>Alternaria</i>	31
Figure 21 : A : Sclérote de <i>Claviceps microcephala</i> , B : Stroma de <i>Claviceps sp</i>	32
Figure 22 : Quelques alcaloïdes produits suivant l'espèce de <i>Claviceps</i>	33
Figure 23 : Les différentes voies de synthèse des mycotoxines.....	35
Figure 24 : Les principales Aflatoxines.....	36
Figure 25 : Structure générale des Aflatoxines.....	37
Figure 26 : Voies de métabolisation et d'élimination de l'Aflatoxine B_1	38
Figure 27 : Structures chimiques des Ochratoxines A, B et C.....	41
Figure 28 : Les principaux métabolites de l'Ochratoxine A.....	43
Figure 29 : Structure chimique générale des Fumonisines.....	46
Figure 30 : Structures chimiques des principales Fumonisines.....	46
Figure 31 : Structure chimique de la Sphingosine.....	50
Figure 32 : Action de la FB_1 sur le métabolisme des sphingolipides.....	50
Figure 33 : Structures chimiques de la Zéaralénone et de ses principaux métabolites.....	51
Figure 34 : Conformations spatiales de la ZEA et de l'Estrone.....	54
Figure 35 : Structures chimiques de quelques alcaloïdes de l'ergot.....	55
Figure 36 : Structures de la dopamine, de l'adrénaline et de la sérotonine.....	58
Figure 37 : Structure chimique générale des Trichothécènes.....	60
Figure 38 : Structures chimiques de quelques TCT.....	61

Figure 39 : Principaux champignons producteurs de TCT	62
Figure 40 : Schéma de l'élongation protéique	65
Figure 41 : Structure chimique de la Patuline.....	67
Figure 42 : Structure chimique de la Citrinine	69
Figure 43 : Structure chimique de la Stérigmatocystine.....	71
Figure 44 : Structures chimiques de quelques toxines d' <i>Alternaria spp</i>	72
Figure 45 : Contamination le long de la chaîne alimentaire et moyens de prévention	73
Figure 46 : Taux de contamination alimentaire des principales mycotoxines dans différentes régions du monde	74
Figure 47 : Estimation des apports d'AFM ₁ , en nanogrammes (ng), par individu et par an, selon le type de produit laitier consommé	76
Figure 48 : Tableau récapitulatif	77
Figure 49 : DJA des principales mycotoxines	78
Figure 50 : CMA des mycotoxines réglementées dans l'alimentation humaine	79
Figure 51 : Candidose buccale causée par <i>Candida albicans</i>	82
Figure 52 : Modes d'action et effets identifiés des principales mycotoxines	84
Figure 53 : Récapitulatif des caractéristiques de la NEB chez l'Homme	85
Figure 54 : Différents stades du syndrome de Raynaud.....	88
Figure 55 : Exemple de lésions purpuriques	91
Figure 56 : Adulte atteint de la MKB.....	93
Figure 57 : Enfant atteint d'ascite.....	95
Figure 58 : Plan d'échantillonnage pour un lot de 250 tonnes.....	98
Figure 59 : Déroulement d'un cycle de PCR.....	99
Figure 60 : Les différentes étapes du test ELISA	102
Figure 61 : Exemple de rotation triennale des cultures.....	107
Figure 62 : Rangement idéal du réfrigérateur	113

Introduction

Depuis que l'Homme s'est sédentarisé et intéressé à l'élevage et à l'agriculture, le nombre de pathologies liées à l'alimentation s'est multiplié.

Les premières épidémies de mycotoxicoses ont été décrites durant l'Antiquité et s'apparentaient à l'ergotisme, plus tard nommé « Feu de Saint Antoine » ou « Mal des Ardents ». Il était à l'origine d'épidémies importantes qui sévissaient à travers le Vieux Continent au cours du Moyen Âge, faisant des centaines de milliers de victimes. Il était appelé ainsi à cause de la sensation de brûlure qu'éprouvaient les victimes. La maladie pouvait aussi être à l'origine de gangrène des extrémités, d'hallucinations et de convulsions pouvant entraîner la mort. La maladie était provoquée par la consommation de farine de seigle contaminée par des mycètes du genre *Claviceps*. Il aura fallu attendre le XIX^{ème} siècle pour que des savants réussissent à isoler les alcaloïdes responsables de l'ergotisme et à en étudier les caractéristiques toxicologiques.

D'autres mycotoxicoses ont été décrites plus tardivement comme l'Aleucie Toxique Alimentaire (ATA), causée par les Trichothécènes et apparue en Russie dans les années 30, ou encore la maladie « X » du dindon, due aux Aflatoxines, qui a sévi en Grande-Bretagne en 1960.

De nos jours, les mycotoxines sont présentes dans tout un ensemble de produits alimentaires. L'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) estime qu'environ un quart de la production mondiale est contaminé, représentant ainsi une perte économique de 5 à 10 %. Outre l'impact économique, les mycotoxines posent un réel problème de santé publique. Leur contact peut donner lieu à des intoxications aiguës ou chroniques, ces dernières étant plus fréquentes. Cancérogénèse, immunotoxicité, néphrotoxicité, hépatotoxicité et neurotoxicité forment la palette des effets néfastes des toxines fongiques.

La gestion du risque passe donc par la prévention de la contamination des matières premières, le respect des bonnes pratiques de culture et de stockage, ainsi que la mise en place d'une réglementation fixant des concentrations maximales admissibles dans les denrées alimentaires.

Ce travail bibliographique a pour but de décrire et d'étudier les mycotoxines présentant les effets les plus délétères ainsi que leur impact sur l'industrie agro-alimentaire et sur la santé humaine. En m'appuyant sur l'ouvrage du Pr A. Pfohl-Leszkowicz et de son équipe (Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque, Tec&Doc, 1999), je m'intéresserai dans une première partie, aux moisissures productrices, aux conditions d'apparition des mycotoxines dans l'environnement, ainsi qu'à leurs principales caractéristiques. Dans un deuxième temps, j'exposerai leur incidence sur l'industrie alimentaire et surtout sur la santé. Enfin, je terminerai par un état des lieux de la réglementation mondiale actuellement en vigueur ainsi que des moyens de lutte mis en œuvre.

Partie 1 : Étude bibliographique

I. Définitions

A. 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. Par ailleurs, ils sont saprophytes (plus rarement parasites), c'est-à-dire qu'ils vivent aux dépens de matières organiques en décomposition en y implantant leur mycélium, qui émet alors des filaments porteurs de spores, les unités de dissémination (1). Ces spores sont issues d'un mécanisme de reproduction sexuée ou asexuée.

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 (2)

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 (3). Certaines souches au sein d'une même espèce ne sont pas obligatoirement toxigènes.

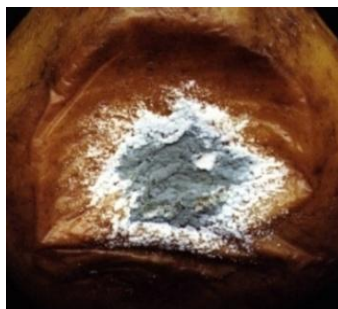


Figure 2 : Pomme contaminée par *Penicillium expansum*

B. 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 (4). Elles sont, chez l'animal et l'humain qui en consomment, à l'origine d'effets biologiques nocifs regroupés sous le terme de mycotoxicoses.

Environ 25 % des produits alimentaires seraient contaminés par des toxines fongiques. On estime entre 200 000 et 300 000 le nombre d'espèces composant la mycoflore. Il existe donc une grande diversité de mycotoxines. Sur plus de 400 mycotoxines recensées, seule une trentaine de molécules possède des propriétés toxiques inquiétantes (5). 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 (6)

- **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* (2)

II. Mycotoxinogénèse

A. Généralités

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).

L'apparition de toxines fongiques dans un milieu est d'autant plus complexe qu'une même espèce de moisissure a la faculté de synthétiser plusieurs substances différentes selon les conditions environnementales. C'est le cas d'*Aspergillus flavus* qui peut sécréter, entre autres, des Aflatoxines, de l'acide cyclopiazonique (CPA) et de l'acide kojique. Inversement, une même toxine peut être produite par des espèces de moisissures différentes : l'Ochratoxine A est à la fois produite par *Penicillium verrucosum* et *Aspergillus ochraceus*. 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 toxinogénèse 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 (8).

B. Facteurs physiques

1. Activité de l'eau

L'activité de l'eau, symbolisée par le sigle A_w (pour *activity of water*), est définie comme le rapport de la pression de vapeur d'eau d'un produit (p) sur la pression de vapeur de l'eau pure (p_0), à une température donnée (9). Elle est à différencier de l'humidité absolue (teneur en eau) qui correspond à la masse d'eau du produit rapportée à la masse totale du produit. En pratique, l'activité de l'eau reflète la quantité d'eau disponible dans une substance liquide ou solide. Elle permet de rendre compte de la quantité d'eau « libre », indispensable aux réactions biochimiques d'un micro-organisme. L' A_w 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' A_w est grand, plus la quantité d'eau disponible pour la croissance d'un micro-organisme est importante.

La croissance de tous les micro-organismes est caractérisée par des A_w minimum, optimum et maximum (figure 5).

Champignons	A_w minimum	A_w 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

Figure 5 : A_w minimum et maximum de plusieurs espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium* (9, 10, 11)

L' A_w requis pour la croissance d'une moisissure est inférieur à celui requis pour la mycotoxinogénèse. La présence d'une moisissure dans un aliment ne signifie donc pas obligatoirement qu'on y retrouvera des toxines fongiques (4).

L'activité de l'eau optimale pour la plupart des espèces fongiques est comprise entre 0,85 et 0,99. Certaines espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium* ont la capacité de se multiplier à des A_w inférieurs à 0,75 et pour une température de 25°C (12). Elles font partie des espèces xérophiles que l'on retrouve dans les produits pauvres en eau (céréales, fruits secs...), notamment au moment de la phase de stockage. En revanche, quelques espèces de *Fusarium* exigent un A_w supérieur à 0,98 (13). Il s'agit de moisissures de champs qui se développent sur les plantes endommagées ainsi que dans les milieux riches en eau.

2. 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' A_w , 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 toxinogénèse. Pour *Penicillium viridicatum* (producteur d'Ochratoxine A), sa croissance a lieu pour une température comprise entre 0 et 31°C et pour un A_w de 0,95, alors que la synthèse d'Ochratoxine A n'est possible qu'à une température comprise entre 12 et 24°C (14).

Comme pour l'activité de l'eau, la croissance des moisissures est caractérisée par des températures minimales, optimales et maximales (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

Figure 6 : Températures de croissance de quelques espèces d'*Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (4)

Trois types de moisissures se distinguent suivant leur température optimale de croissance :

- **Les espèces cryophiles**, ou psychrophiles, se développent à des températures relativement basses, inférieures à 5°C. C'est le cas de *Cladosporium herbarum* qui peut se développer à des températures négatives.
- **Les espèces mésophiles** privilégient les températures allant de 5 à 35°C. La plupart des moisissures sont mésophiles, avec des températures idéales de croissance allant de 20 à 25°C. C'est notamment le cas de plusieurs espèces d'*Aspergillus* (15).
- **Les espèces thermophiles** : dont la croissance est optimale aux alentours de 35°C. Par exemple : *Aspergillus flavus* peut continuer de se multiplier au-delà de 50°C (13).

Il convient de souligner que la grande majorité des moisissures est sensible aux traitements thermiques (pasteurisation, cuisson), contrairement aux mycotoxines qui sont thermorésistantes. De plus, la température interfère sur l'intégrité et la conservation de la denrée, favorisant alors l'apparition de moisissures.

3. 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.

C. Facteurs chimiques

1. Acidité du milieu - pH

Le potentiel hydrogène (ou pH) reflète l'activité chimique des ions hydrogènes (protons) en solution. Il permet de déterminer si une solution est acide ou alcaline. L'échelle de pH est basée sur le pH de l'eau pure à 25°C :

- Elle est **neutre** lorsque son pH est égal 7,
- Elle est **basique** si le pH est supérieur à 7,
- Et elle est **acide** si le pH est inférieur à 7.

Les moisissures peuvent croître dans une gamme de pH allant de 3 à 8, leur pH optimal de croissance étant plutôt situé entre 5 et 6. 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/ A_w , 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).

2. Composition gazeuse

La disposition O₂/CO₂ est une ressource sélective pour la croissance fongique. La majeure partie des micromycètes est aérobie, c'est-à-dire que ces champignons ont besoin d'oxygène, sous la forme de dioxygène (O₂), pour pouvoir se développer. Certains peuvent vivre en anaérobiose, comme *Byssochlamys nivea*, que l'on retrouvera plus en profondeur dans les denrées car moins exigeante (18).

La production de toxines fongiques est plus sensible à la variation de composition gazeuse que la croissance fongique. Une concentration en O₂ inférieure à 1 % et des concentrations élevées de dioxyde de carbone (CO₂) empêchent la synthèse de toxines (figure 7).

	Biomasse g/L	FB1 µg/g
Présence d'O₂	14,1 ± 0,5	533 ± 88,4
Absence d'O₂	4,3 ± 0,3	Non décelable

Figure 7 : Impact de la restriction d'O₂ sur *Fusarium proliferatum* et la production de FB₁ (19)

En plus de diminuer la synthèse de FB₁, le taux d'O₂ affecte également la croissance du champignon. Ainsi, l'absence de dioxygène rend indécelable la synthèse de Fumonisine B₁.

3. 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). Les moisissures ne sont pas capables de proliférer sur n'importe quel substrat (20). Dans certaines conditions, elles peuvent se développer sur des matières inorganiques (polymères, métaux), à condition que celles-ci présentent des résidus de matières organiques.

La toxigenèse dépend fortement de la composition chimique du substrat sur lequel le champignon prolifère. Par exemple, l'acide phytique (souvent présent dans les céréales) diminue la synthèse d'Aflatoxines (AF) par *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus flavus*. À l'inverse, certains acides aminés (comme la proline) stimulent cette production (21)

4. Traitement chimique du milieu

L'action des pesticides est intéressante puisqu'ils sont abondamment utilisés dans l'industrie agro-alimentaire pour la conservation des aliments et le contrôle de l'apparition de maladies végétales. S'ils sont utilisés avec succès, le risque d'apparition de mycotoxines est faible.

Cependant, il a été démontré qu'à des concentrations sub-létales (proches de celles qui provoquent la mort), la synthèse de certaines mycotoxines est facilitée (22). Par exemple, la mauvaise maîtrise de l'utilisation d'acide propionique dans l'orge entraîne une augmentation de la production d'Aflatoxine B₁ (AFB₁), tandis que la croissance d'*Aspergillus flavus* est réduite (23). L'utilisation de fongicides doit donc être judicieuse.

D. Facteurs biologiques

1. 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).

2. 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 toxinogenèse (24).

De cette manière, il existe une compétition entre *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus flavus*. Lorsque que ces deux moisissures sont en présence, on observe une augmentation de la production d'Aflatoxines, tandis que les Ochratoxines sont peu sécrétées voire totalement absentes. Ce phénomène s'explique par la monopolisation de la source de phénylalanine par *Aspergillus flavus*. L'OTA étant un analogue structural de cet acide aminé, elle ne peut alors plus être synthétisée (25).

3. Présence d'acariens et insectes

Insectes et acariens sont des vecteurs de dissémination de spores de moisissures, qu'ils introduisent à l'intérieur du grain par les dommages qu'ils créent. Une infestation par les insectes (asticots, larves de coléoptères) favorise la prolifération de micromycètes ainsi que la production de toxines (26). Les insectes détruisent l'enveloppe extérieure des grains, facilitant ainsi la pénétration de la souche à l'intérieur de la graine. Les acariens, vivant sur les céréales atteintes, récupèrent et transportent les spores de champignons sur leur corps et également dans leur tube digestif et déjections. Par conséquent, la contamination des grains sains se produit lorsque des acariens arrivent en contact avec ces grains. Ils interviennent aussi bien avant la récolte qu'au cours de la conservation. Il convient de noter que les oiseaux et les rongeurs interfèrent de manière similaire. Ainsi, l'infestation de l'arachide, du coton et du maïs, par *Aspergillus flavus* (producteur de l'AFB₁) avant la récolte, est souvent liée à l'agression du végétal par des insectes (27).

4. Pratiques agricoles

Les pratiques telles que le labourage, la rotation des cultures et l'alternance de fongicides participent à rompre le cycle de vie des organismes nuisibles, souvent très spécifiques (28). Les mesures de stockage jouent également un rôle dans le possible développement des toxines fongiques.

III. Champignons toxigènes

A. Généralités sur les mycètes

Les mycètes sont des organismes eucaryotes, uni- ou pluricellulaires, comprenant des espèces microscopiques (ou moisissures) et des espèces macroscopiques (champignons supérieurs). Les micromycètes représentent entre 20 000 et 50 000 espèces de la mycoflore. Ils sont constitués de filaments mycéliens (hyphes) et d'organes fructifères capables de coloniser divers substrats. Ils sont ubiquitaires, non photosynthétiques et hétérotrophes, c'est-à-dire qu'ils nécessitent une source extérieure de carbone et d'azote pour leur croissance.

Les mycotoxines sont principalement synthétisées par cinq espèces toxigènes de champignons microscopiques : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Claviceps*, *Fusarium* et *Alternaria* (29, figure 8).

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

Figure 8 : Toxines sécrétées par les principaux genres de moisissures (4)

1. Classification des mycètes

Les avis diffèrent quant à la classification des mycètes, du fait de la complexité de l'appareil végétatif et de la très grande variété d'espèces. Néanmoins, la nomenclature la plus couramment admise (30) est fondée sur la composition des parois, sur la structure des filaments et des spores produites au cours des cycles de reproduction sexuée et asexuée.

Selon cette nomenclature, les mycètes sont répartis en 4 embranchements :

- **Les Zygomycètes** (Mucorales) sont des champignons inférieurs, à hyphes non cloisonnés et dont les zygospores flagellées sont contenues à l'extérieur d'une cellule renflée.
- **Les Ascomycètes** (Pézizes, Morilles...) sont des champignons supérieurs septés dont les ascospores sont contenues à l'intérieur d'un sac, aussi nommé asque.
- **Les Basidiomycètes** (Amanites...) sont également des champignons supérieurs septés dont les basidiospores sont portées par des cellules spécialisées appelées basides.
- **Les Deutéromycètes** sont des champignons microscopiques septés dont seul le mode de reproduction végétative (asexuée) est connu. Les *Deuteromycota* sont aussi nommés *Fungi imperfecti*, ou champignons imparfaits. Ce type de moisissures ne forme pas un groupe naturel mais un ensemble artificiel de champignons inclassables du fait de l'absence de reproduction sexuée connue. La plupart des Deutéromycètes sont des formes imparfaites d'Ascomycètes. Les Deutéromycètes sont divisés en 3 classes (31, 32) :
 - **Les Blastomycètes** réunissent les levures dont la reproduction se fait par bourgeonnement.
 - **Les Hyphomycètes** dont les appareils reproducteurs sont dispersés (ex : genre *Monilia*).
 - **Les Coelomycètes** dont les appareils reproducteurs sont regroupés (ex : Mélanconiales).

2. Caractères morphologiques des champignons

a. Système végétatif

Tous les champignons sont des organismes eucaryotes, c'est-à-dire que leurs cellules possèdent un noyau typique (avec membrane nucléaire, chromatine...). Leur paroi cellulaire est épaisse et ne contient pas de cellulose mais un autre glucide : la chitine, polysaccharide azoté souple et résistant.

Tout mycète possède un appareil végétatif constitué de filaments (ou hyphes) regroupés en thalle filamenteux appelé mycélium (figure 9). C'est grâce à ce mycélium que le champignon peut se fixer sur un substrat et y proliférer (15). Sa croissance est apicale, elle se fait par allongement du filament à son extrémité (par mitose).

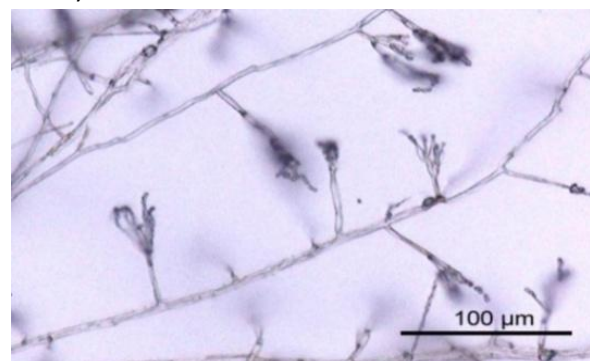


Figure 9 : Observation microscopique du mycélium de *Penicillium sp* (6)

Le thalle peut être siphonné ou cloisonné :

- **Thalle siphonné** : les filaments constituant le mycélium sont non cloisonnés. Ce type de thalle est caractéristique des champignons appartenant aux Zygomycètes.
- **Thalle cloisonné ou septé** : les cellules du thalle sont séparées par des cloisons. Il peut y avoir soit un noyau par cellule soit plusieurs, dans ce cas on parle d'article et non de cellule. Ce système est spécifique des Deutéromycètes et des champignons supérieurs appartenant aux Ascomycètes et aux Basidiomycètes (33).

b. Spores

Les spores peuvent être constituées d'une ou plusieurs cellules, dans ce cas on parle d'organe. Elles participent au cycle de vie du champignon à travers les différents modes de reproduction (sexuée ou asexuée). Ce sont les unités de dissémination du champignon. Les spores issues de la reproduction asexuée peuvent être de deux types :

- **Les spores asexuées endogènes** sont produites à l'intérieur des sporanges, sortes de sacs fermés et portés par les sporangiophores. A maturité, les sporanges se déchirent, libérant ainsi les endospores. Ces spores sont spécifiques des champignons inférieurs, tels que les Mucorales.
- **Les spores asexuées exogènes**, autrement nommées conidies (figure 10), sont produites par bourgeonnement à partir de cellules spécialisées en forme de bouteille : les phialides. Ces phialides sont portées par des organes appelés conidiophores. Les conidies sont caractéristiques des formes anamorphes des mycètes. Au niveau génétique, les conidies sont haploïdes, c'est-à-dire qu'elles ne contiennent qu'un seul exemplaire de chaque chromosome.

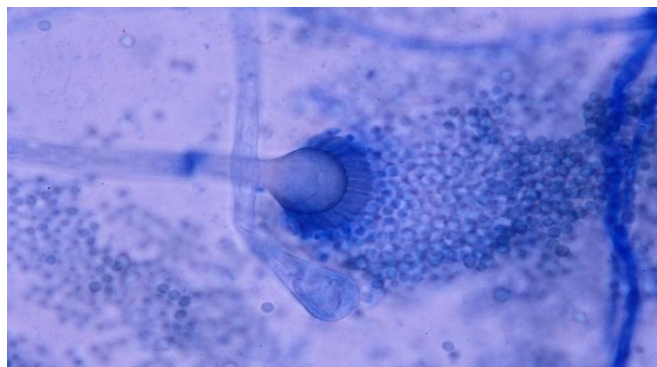


Figure 10 : Conidies d'*Aspergillus sp* (2)

La dissémination des spores se produit soit par expulsion (parfois violente) des organes qui les contiennent soit par chute au sol, sous l'effet de la gravité. D'autres sont dispersées grâce au vent ou aux insectes.

Les spores peuvent subsister plusieurs mois voire plusieurs années dans l'environnement. L'air ambiant contient toujours des spores en suspension, en quantité plus ou moins importante selon la saison. Les espèces les plus présentes dans l'air ambiant appartiennent aux genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* et *Alternaria*.

3. Reproduction des mycètes

Pour un même champignon, selon ses conditions de vie, deux types de processus peuvent être à l'origine de la production des spores (aussi nommée fructification) :

- La reproduction sexuée :

Elle concerne les champignons téléomorphes, ou formes parfaites. Les gamètes mâles et femelles sont produits par des organes différenciés et spécialisés, appelés gamétocystes. Il y a par la suite fusion des gamètes, par caryogamie, permettant l'obtention d'une cellule œuf diploïde contenant un nombre pair de chromosomes. Ce zygote va se diviser par méiose et donner des spores haploïdes, ne possédant qu'un seul exemplaire de chromosomes (1).

- La reproduction asexuée :

Ce type de reproduction concerne les formes imparfaites, ou anamorphes (*Deuteromycota*). En général, elle se manifeste lorsque les conditions de vie sont difficiles (hiver, sécheresse). Le noyau des spores est issu directement du noyau du thalle par simple mitose. Les cellules obtenues sont identiques aux cellules-mères haploïdes. Par conséquent, tous les thalles engendrés sont des clones du thalle parent (figure 11).

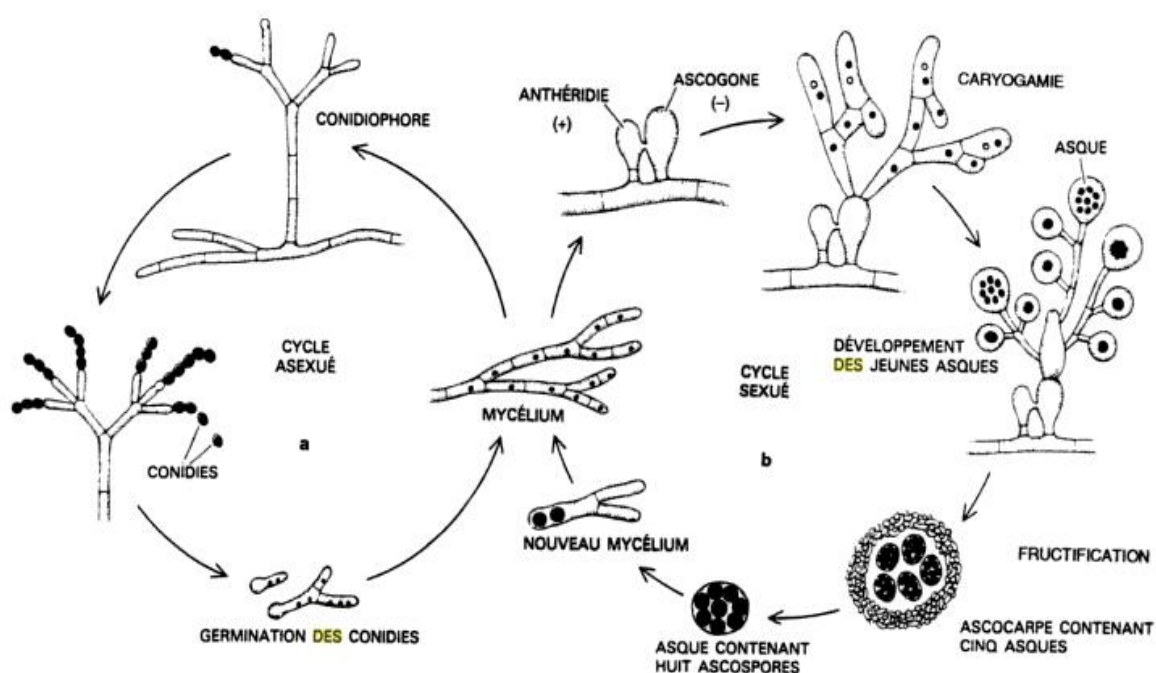


Figure 11 : Schéma récapitulatif des deux modes de reproduction chez les Ascomycètes (34)

Chez la majeure partie des mycètes, les formes anamorphes et téléomorphes coexistent. Ces champignons, possédant à la fois le mode de reproduction sexuée et asexuée, sont désignés sous le terme de holomorphes (35). Les Deutéromycètes regroupent uniquement les formes anamorphes des champignons, les formes téléomorphes de ces champignons n'étant pas connues voire inexistantes.

B. 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* (36).

a. Critères d'identification microscopiques et macroscopiques (15)

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 péricelle. 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 (figure 12). Les phialides donnent naissance aux spores qui se positionnent alors en chaînes.

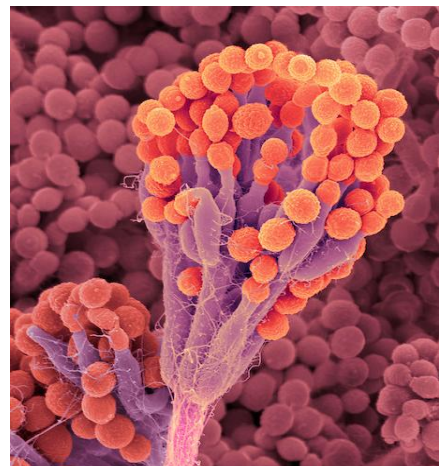


Figure 12 : *P. notatum* au microscope électronique (37)

Plusieurs dispositions sont possibles (figure 13):

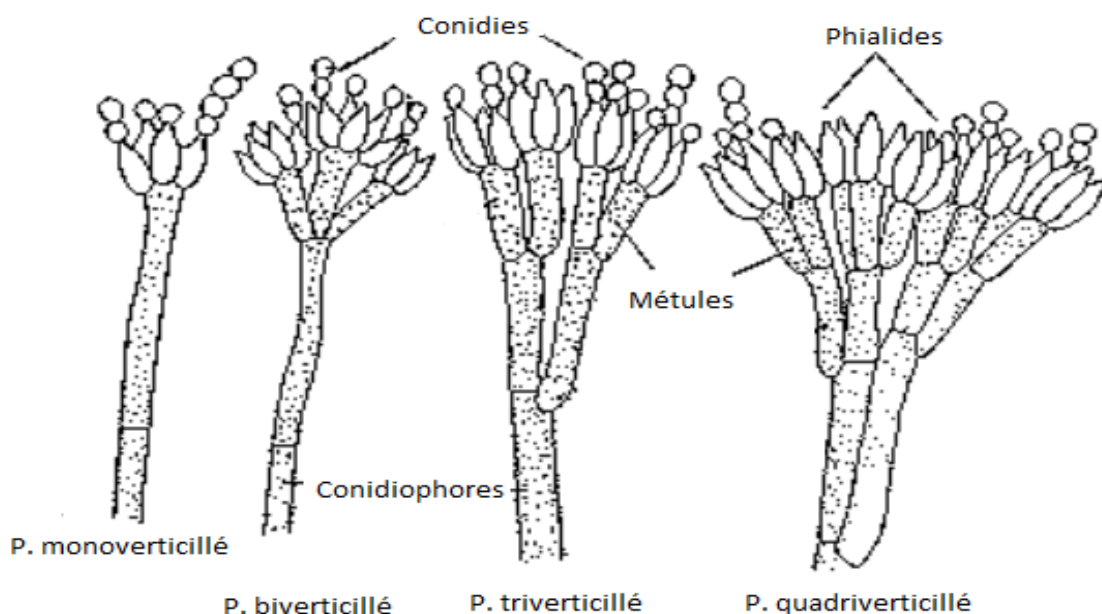


Figure 13 : Schéma des différentes dispositions de verticilles chez *Penicillium* sp (39)

- ***Penicillium monoverticillé*** : les phialides sont insérées directement sur le stipe. Exemple : *Penicillium restrictum*, *Penicillium glabrum*.
- ***Penicillium biverticillé*** : on observe la présence d'une rangée de métules (cellules stériles). Exemple : *Penicillium funiculosum*, *Penicillium purpurogenum*.
- ***Penicillium triverticillé*** : il se caractérise par la présence de deux rangées de métules. Exemple : *Penicillium verrucosum*, *P. expansum*, *P. griseofulvum*.
- ***Penicillium quadriverticillé*** : cette disposition est plutôt rare et se distingue par trois rangées de métules insérées sur les conidiophores (38).

b. Habitat

Genre polyphage et saprophyte, *Penicillium* est responsable de nombreuses dégradations. Il est très commun dans l'environnement ; on le retrouve aussi bien dans le sol et les matières organiques en décomposition que dans les denrées alimentaires telles que les céréales, les arachides et les produits laitiers. C'est un contaminant très fréquent des régions tempérées ; sa croissance est optimale pour des températures comprises entre 20 et 27°C et pour une humidité importante. On le retrouve également poussant sur des matériaux de construction dans des environnements endommagés par l'eau, ainsi que dans l'air intérieur et la poussière domestique (40).

c. Intérêt

Plusieurs espèces de *Penicillium* sont capables de produire des mycotoxines (figure 14) :

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 14 : Quelques toxines produites suivant l'espèce de *Penicillium* (14, 41, 42)

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.

Par ailleurs, les *Penicillia* peuvent être responsables d'inflammation de la cornée (kératomycose), d'onychomycose et d'infection de l'oreille externe (43). Chez les personnes immunodéprimées (par exemple, les personnes atteintes par le VIH), les *Penicillia* sont à l'origine d'infections systémiques touchant les organes profonds comme le foie, la rate, et les ganglions (44).

Si certaines espèces sont pathogènes, d'autres ont un intérêt industriel. C'est le cas de *Penicillium camemberti* et *Penicillium roqueforti*, indispensables à la fabrication de certains fromages bleus. *Penicillium griseofulvum* a quant à lui un intérêt médical car il joue un rôle dans la synthèse d'un antifongique : la griséofulvine. On peut aussi citer *Penicillium notatum*, producteur de la « pénicilline », découverte par Alexander Flemming et qui a permis de donner naissance à des antibiotiques majeurs (amoxicilline, pipéracilline...).

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.

a. Critères d'identification microscopiques et macroscopiques

Les colonies d'*Aspergillus spp*, duveteuses ou poudreuses, à développement rapide, sont le plus souvent de couleurs vives et variées.

L'appareil végétatif d'*Aspergillus spp* est formé de filaments mycéliens cloisonnés et ramifiés. Se dressent sur ces filaments végétatifs les conidiophores qui se terminent par une vésicule de forme variable. La forme et la taille de cette vésicule sont spécifiques de l'espèce en question. Les phialides peuvent être insérées directement sur la vésicule : dans ce cas on parlera de « tête unisériée ». Si les cellules conidiogènes sont précédées de métules, on parlera de « tête bisériée ». L'ensemble phialides/métules forme le stérigmate. Le stérigmate, la vésicule et les spores constituent la « tête aspergillaire » (figure 15). Les spores sont insérées en chaîne sur les phialides. Elles sont unicellulaires, de forme globuleuse, ou elliptique, et de couleurs variables (46).

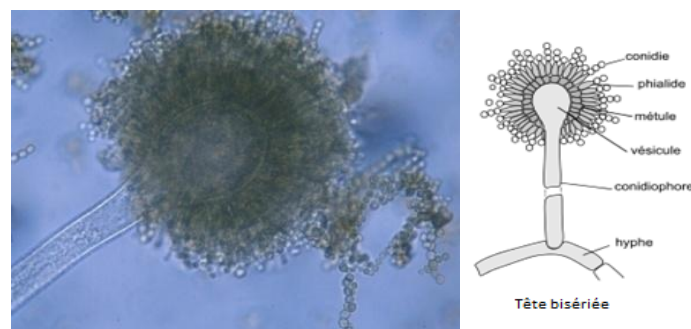


Figure 15 : Observation microscopique et schéma d'une tête aspergillaire (6)

b. Habitat

À l'instar des *Penicillia*, les *Aspergilli* sont cosmopolites et omniprésents dans l'environnement intérieur, surtout dans la poussière. Leur dissémination est d'autant plus facile qu'une « tête aspergillaire » est capable de produire au cours de sa vie jusqu'à 10^4 spores.

La répartition géographique des *Aspergilli* est assez vaste. Ils sont le plus souvent présents dans les zones tropicales et subtropicales, donc adaptés à des climats chauds et à des milieux pauvres en eau (13). La température optimale de croissance de la plupart des espèces d'*Aspergillus* se situe entre 25 et 40°C. La plupart des *Aspergilli* poussent à 20-25°C. Les espèces thermophiles, comme *Aspergillus fumigatus*, se développent au-delà de 35°C et parfois même jusqu'à 57°C (33). C'est pourquoi ils se développent très bien dans les produits alimentaires dits « secs » (salaisons, blé, farines, arachide...).

c. Intérêt

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 16) :

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

Figure 16 : Quelques toxines produites suivant l'espèce d'*Aspergillus* (41)

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).

Les espèces à l'origine d'aspergilloses sont (47) :

- ***Aspergillus fumigatus*** : c'est l'agent responsable de l'aspergillose broncho-pulmonaire, qui est une réaction allergique au champignon, et d'aspergillomes (colonisation d'une cavité tuberculeuse).
- ***Aspergillus flavus*** : il est responsable d'aspergilloses pulmonaires ou généralisées.
- ***Aspergillus niger*** : il est à l'origine d'otites, de sinusites et d'infections cutanées.
- ***Aspergillus terreus*** : il est impliqué dans l'apparition d'aspergilloses pulmonaires et cérébrales chez les patients immunodéficients (48).

D'autres espèces sont utilisées dans l'industrie agro-alimentaire et dans l'industrie des biotechnologies, impliquée dans la production d'acides organiques, d'enzymes et de pigments (15, 49). *Aspergillus niger* est employé pour la synthèse d'acides alimentaires comme l'acide citrique et l'acide gluconique, ainsi que pour la production d'enzymes (alpha-amylase, lipase, pectinase...). *Aspergillus oryzae* est utilisé dans les pays asiatiques pour la production de produits fermentés à base de soja.

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.

a. Critères d'identification microscopiques et macroscopiques

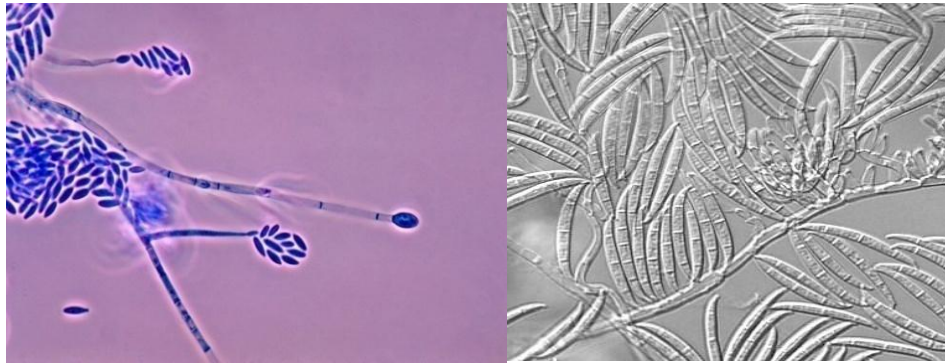
Les *Fusaria* se développent rapidement et produisent des colonies planes, d'aspect cotonneux, voire floconneux, et de couleurs claires : crème, blanche, saumon, violette, brune, jaune (51)...

Le principal caractère microscopique de reconnaissance des *Fusaria* réside dans la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées (annexe 1, 50). Les différentes espèces se distinguent essentiellement par la forme de leurs conidies. Les conidiophores, parfois très ramifiés, forment sur le thalle des coussinets (sporodochies) et portent des grappes de spores.

Les cellules conidiogènes peuvent produire différents types de spores :

- **Les microconidies** : elles sont de petite taille et peuvent être uni- ou bicellulaires. Elles sont de différentes formes : fusiformes, ovoïdes, cylindriques, solitaires ou groupées. On peut citer en exemple *Fusarium verticillioides* (figure 17).

Figure 17 : Observation microscopique de l'appareil végétatif de *Fusarium verticillioides* et de macroconidies de *Fusarium graminearum* (6)



- **Les macroconidies** : ce sont des conidies pluricellulaires, cloisonnées, fusiformes et de grande taille. La cellule basale est pédicellée et la cellule apicale forme un crochet, idéal pour la dissémination. Elles sont fréquemment regroupées en grappe. On retrouve les macroconidies notamment chez *Fusarium graminearum* (figure 17).
- **Les chlamydospores** : ce sont des spores résistantes ne se détachant pas de la moisissure. Elles ne sont pas produites par toutes les espèces de *Fusarium*. Elles peuvent être terminales ou intercalaires (52) et peuvent résister des années dans le sol, préservant ainsi le champignon.

b. Habitat

Les *Fusaria* sont cosmopolites, on les retrouve dans toutes les régions du monde, des régions tropicales et désertiques aux régions tempérées, leur température idéale de croissance étant située entre 22 et 37°C (4). Du fait de l'existence de chlamydospores chez certaines espèces, la conservation du mycélium dans le sol et sa dissémination sont facilitées.

c. Intérêt

Le genre *Fusarium* rassemble un grand nombre d'espèces phytopathogènes (53). Il a un impact économique important car c'est un contaminant de nombreuses céréales (blé, avoine, orge), de légumes et d'arbres fruitiers. Il se développe préférentiellement sur les végétaux sénescents ou stressés. Il est impliqué dans la pourriture des tiges, des fruits et du système racinaire (54).

De par leur capacité à produire des mycotoxines (figure 18), 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.

Figure 18 : Quelques toxines produites suivant l'espèce de *Fusarium* (41)

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

La Zéaralénone, notamment sécrétée par *Fusarium graminearum*, présente un intérêt vétérinaire car c'est un perturbateur endocrinien mimant l'action des œstrogènes. Elle est supposée être à l'origine de problèmes de reproduction (infertilité, avortement) chez l'animal.

Chez l'Homme, les effets de *Fusarium spp* sont divers. Quelques espèces sont à l'origine d'infections systémiques (55), d'autres sont impliquées dans des kératites, des allergies, dans des mycoses unguéales ou des otomycoses. Les patients immunodéprimés (diabétiques, grands brûlés) sont des cibles privilégiées de ces champignons opportunistes. *Fusarium verticillioides* est responsable de fusarioses disséminées chez les personnes atteintes par le VIH (56).

4. Genre *Alternaria*

Ces mycètes filamenteux imparfaits appartiennent à la division des Deutéromycètes. Environ une cinquantaine d'espèces est identifiée, mais on estime qu'il en existe plus du double. *Clathrospora*, *Lewia*, *Pleospora* sont les formes sexuées du genre *Alternaria*, elles sont rattachées aux Ascomycètes. *Alternaria alternata* est le chef de file de ce genre.

a. Critères d'identification microscopiques et macroscopiques

Au niveau macroscopique, les colonies d'*Alternaria spp* ont un aspect de velours, de couleur noire ou grise.

Au niveau microscopique, les conidiophores courts et cloisonnés sont de couleur foncée. A leur extrémité se situent des chaînes simples ou ramifiées de spores (figure 19). Les spores, initialement ovales, prennent une forme de massue en vieillissant. Elles sont pluricellulaires et divisées par des cloisons longitudinales ou transversales (57).

Figure 19 : Observation au microscope d'*Alternaria alternata* (6)



b. Habitat

Le genre *Alternaria* est aussi un genre ubiquitaire, on le retrouve dans toutes les régions du Globe. Les espèces d'*Alternaria* peuvent croître à des températures allant de 0 à 32°C, bien que leur température optimale de croissance soit comprise entre 22 et 27°C. Ce champignon est considéré comme une des moisissures aéroportées extérieures les plus importantes. Il est aussi très présent dans la poussière des environnements intérieurs.

c. Intérêt

Certains *Alternaria spp* sont saprophytes. Toutefois, certaines espèces peuvent devenir des agents pathogènes opportunistes responsables de maladies atteignant plantes, insectes et êtres humains. De nombreuses espèces sont des phytopathogènes de plantes cultivées ou d'ornementation. La gamme de plantes concernées par les alternarioses est très vaste, allant des céréales (*Alternaria triticina*) aux cultures maraîchères et fruitières (58). Par exemple : *Alternaria brassicae* est l'agent responsable de la « maladie de la tache noire du chou » (*Brassica oleracea*). Chez l'Homme, les *Alternaria spp* sont principalement responsables d'affections cutanées, d'otites, de kératites et d'allergies sévères. *Alternaria alternata* est connue pour être un puissant allergène, déclenchant d'importantes réactions (asthme ou rhinite) durant les mois d'été.

Seule une dizaine d'individus du genre *Alternaria* est productrice de toxines fongiques (figure 20) :

Espèces	Toxines produites
<i>Alternaria brassicicola</i>	Alternariol, Alternariol monométhylether
<i>Alternaria oryzae</i>	Acide ténuazonique
<i>Alternaria solani</i>	Alternariol, Alternariol monométhylether, Acide ténuazonique
<i>Alternaria radicina</i>	Acide ténuazonique, Altértoxines I, II, III
<i>Alternaria cassiae</i>	Altértoxines I, II, III
<i>Alternaria tenuissima</i>	Tentoxine

Figure 20 : Quelques toxines produites suivant l'espèce d'*Alternaria* (59, 60, 61)

Mais toutes les espèces ne sont pas indésirables ; certaines ont une utilité dans le contrôle des plantes invasives. En effet, *Alternaria alternata* a un pouvoir herbicide efficace envers l'Amarante réfléchie, « mauvaise herbe » comestible (62).

5. Genre *Claviceps*

Les espèces du genre *Claviceps* ne sont pas classées dans la division des Deutéromycètes. En effet, le mode de reproduction sexuée a été identifié chez tous les individus de ce genre. C'est donc un genre prenant place à part entière dans la famille des Clavicipitacées, division des Ascomycètes. Il regroupe une cinquantaine d'espèces produisant plus de cinquante alcaloïdes différents (63).

L'espèce la plus représentative est *Claviceps purpurea*, agent responsable de la maladie de l'ergot du seigle chez les végétaux et de l'ergotisme chez l'Homme et l'animal (1).

a. Critères d'identification

Les différentes espèces se distinguent par la couleur, la forme et la taille du sclérote, aussi nommé ergot. Le sclérote est la forme de résistance du champignon durant l'hiver. Son enveloppe protectrice est rigide et de couleur brun-violacé à noir. Les caractéristiques morphologiques du sclérote dépendent de l'hôte. Il est composé d'un amas compact de filaments mycéliens. Au printemps, le sclérote germe et cet agglomérat, dénommé stroma, devient l'organe dans lequel se réalise l'élaboration des ascocarpes, producteurs de spores (figure 21).

Si le sclérote est la forme sexuée du *Claviceps spp*, la sphacélie en est la forme végétative.

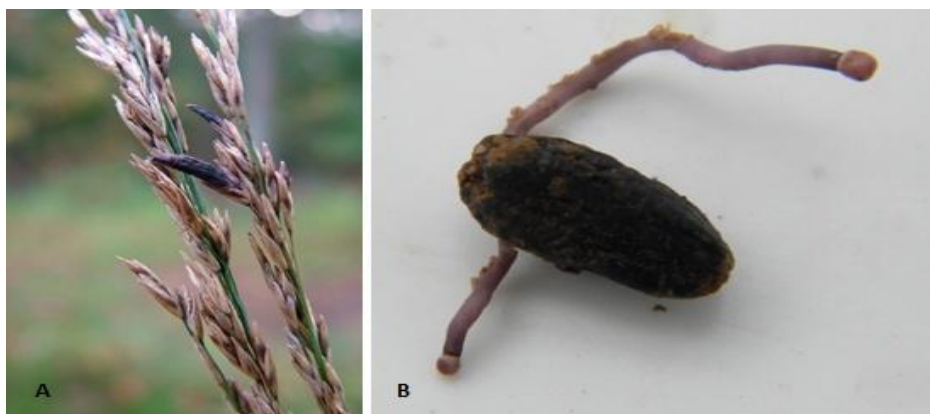


Figure 21 : A: Sclérote de *Claviceps microcephala*, B : Stroma de *Claviceps sp* (6)

b. Habitat

Claviceps est un genre qui prolifère dans les zones tempérées car sa croissance nécessite des températures comprises entre 5 et 20°C (64). Une température de 12°C est idéale pour le développement des sclérotes et la production de spores. Par ailleurs, les temps frais et humides favorisent la germination des ergots.

c. Intérêt

Les individus du genre *Claviceps* sont pour la plupart des agents saprophytes phytopathogènes se développant dans les organes reproducteurs de végétaux appartenant principalement aux cypéracées et graminées (riz, orge, avoine...). L'éventail de plantes concernées est vaste, on estime que *Claviceps spp* est le parasite de plus de 400 espèces de végétaux.

Chez l'Homme, *Claviceps purpurea* est responsable de l'ergotisme, anciennement appelé « Mal des Ardents ». Il était provoqué par l'ingestion de farines contaminées par les alcaloïdes produits par le sclérote de *Claviceps spp* (figure 22).

Espèces	Toxines produites
<i>Claviceps fusiformis</i>	Clavine, Elymoclavine
<i>Claviceps paspali</i>	Acide lysergique, Chanoclavine
<i>Claviceps purpurea</i>	Acide lysergique, Chanoclavine, Ergotamine, Agroclavine Ergocriptine, Ergosine, Chanoclavine
<i>Claviceps africana</i>	Clavine, Dihydroergosine

Figure 22 : Quelques alcaloïdes produits suivant l'espèce de *Claviceps* (63, 65)

La maladie entraînait une gangrène des membres et une brûlure des tissus, expliquées par le pouvoir vasoconstricteur des toxines de l'ergot. À cela s'ajoutait des effets neurologiques tels que des hallucinations, des crises convulsives et dépressives. De nos jours, les cas d'ergotisme sont rares voire inexistants.

Malgré leurs effets toxiques, les alcaloïdes de l'ergot ont des propriétés thérapeutiques indéniables. Les propriétés vasoconstrictrices de l'ergotamine et de ses dérivés hémisynthétiques sont détournées actuellement pour traiter les cas d'hypotensions orthostatiques et de crises migraineuses. La bromocriptine, bloquant la lactation chez les femmes ne voulant pas allaiter, doit son utilisation à son action anti-dopaminergique. D'autre part, en association avec la lévodopa, il permet l'atténuation des symptômes de la maladie de Parkinson.

IV. Présentation des mycotoxines

A. Généralités

Les mycotoxines font partie des métabolites secondaires ne jouant pas de rôle avéré dans les réactions physiologiques du champignon. Le métabolisme primaire, amenant à la production de glucides, lipides et protéides, est commun à toutes les espèces de champignons. Le métabolisme secondaire diffère du primaire par sa dépendance aux conditions extérieures (température, pH, A_w ...) et à l'espèce considérée (66). Il n'est pas directement lié à l'activité cellulaire. L'absence de mycotoxines n'entraîne pas la mort du champignon mais peut limiter sa survie ou sa croissance.

Le rôle des toxines fongiques est d'améliorer la compétitivité des champignons qui les produisent : communication entre champignons, moyen de défense, chimiotactisme des insectes favorisant la dissémination des spores.

Plusieurs mécanismes peuvent amener à l'élaboration de toxines :

- En contaminant un végétal, le champignon 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 (27).

Les toxines fongiques sont des composés chimiques non protéiques (donc non immunogènes pour les organismes qui en consomment), de faible poids moléculaire et thermostables. Leur petite taille et leur faible solubilité dans l'eau les rendent particulièrement stables en milieux acides et basiques, et résistantes aux traitements thermiques.

La majeure partie des mycotoxines comporte des hétérocycles insaturés présentant des doubles liaisons carbonées (C=C) dans leur structure, à l'origine de leurs propriétés toxiques et carcinogènes (42).

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. Font partie des dérivés des acides aminés : 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.

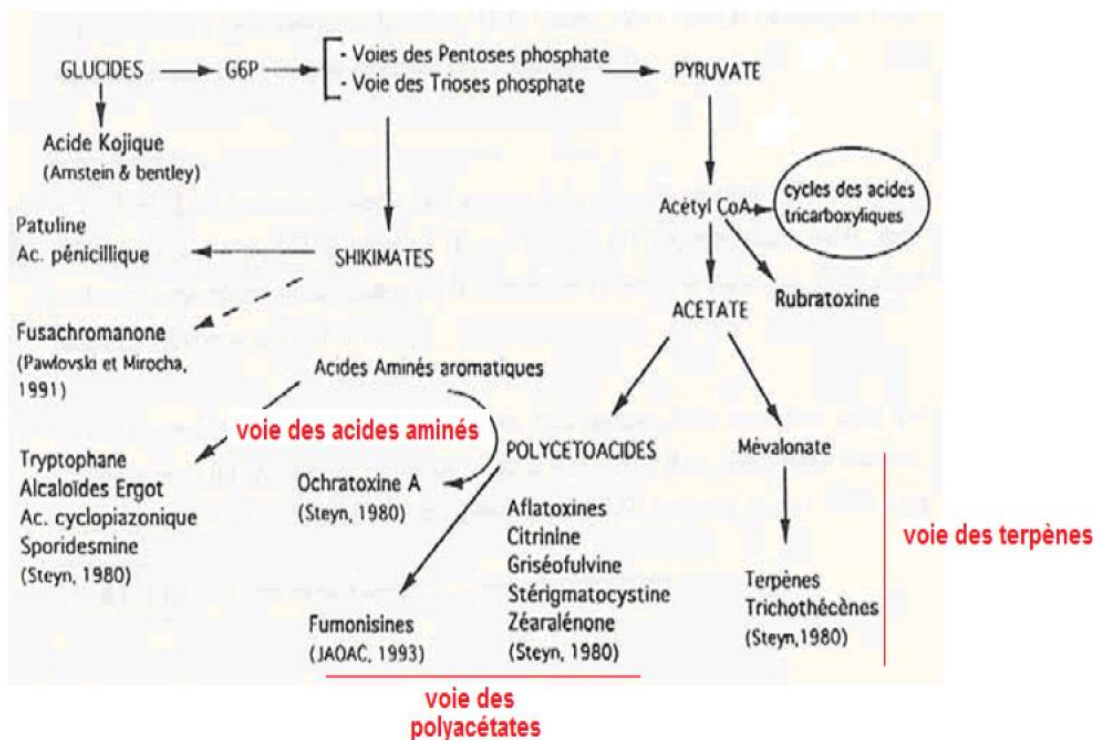


Figure 23 : Les différentes voies de synthèse des mycotoxines (67, 68, 69)

Les effets toxiques des mycotoxines sont variés. Certaines toxines sont nocives pour le foie, comme les Aflatoxines, quand d'autres sont immunotoxiques, hématotoxiques, néphrotoxiques ou encore neurotoxiques. D'autres se révèlent être dermo-nécrosantes (Trichothécènes) ou œstrogéniques (Zéaralénone).

Une grande partie de ces toxines sont reconnues ou soupçonnées être cancérogènes (70). Les toxines cancérogènes sont classées selon les groupes établis par le CIRC (Centre International de Recherche sur le Cancer) :

Groupe 1 : l'agent est *cancérogène* pour l'Homme.

Groupe 2A : l'agent est *probablement cancérogène* pour l'Homme.

Groupe 2B : l'agent est *peut-être cancérogène* pour l'Homme.

Groupe 3 : l'agent est *inclassable quant à sa cancérogénicité* pour l'Homme.

Groupe 4 : l'agent *n'est probablement pas cancérogène* pour l'Homme.

B. Principales mycotoxines

1. Aflatoxines

La « maladie X du dindon », qui a sévi en Angleterre au début des années 1960, a permis de mettre en lumière l'existence des toxines de moisissures. Les Aflatoxines ont été isolées à partir de farines d'arachides, habituellement consommées par les volailles et contaminées par des souches d'*Aspergillus*. Le terme d'Aflatoxine (AF) a été attribué à ces toxines en référence à *Aspergillus flavus* (abrégé en *A. flavus*), premier champignon identifié comme étant responsable de la sécrétion de ces toxines (71).

a. Structure

Les Aflatoxines forment un groupe de 18 composés structurellement proches (figure 24), dont six constituent les formes les plus couramment rencontrées dans les aliments (B_1 , B_2 , G_1 , G_2 , M_1 et M_2). Ce groupe de toxines est issu de la voie des polycétoacides.

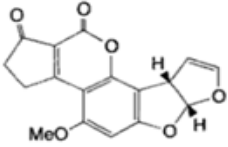
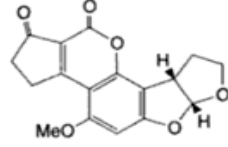
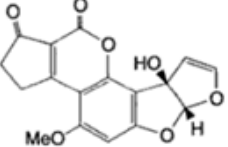
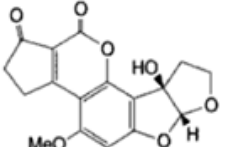
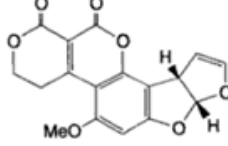
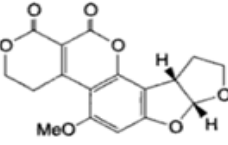
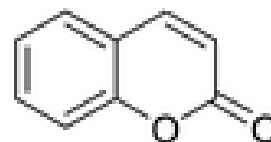
Dénomination	Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Structure chimique
Aflatoxine B_1	$C_{17}H_{12}O_6$	312,3	
Aflatoxine B_2	$C_{17}H_{14}O_6$	314,3	
Aflatoxine M_1	$C_{17}H_{12}O_7$	328,3	
Aflatoxine M_2	$C_{17}H_{14}O_7$	330,3	
Aflatoxine G_1	$C_{17}H_{12}O_7$	328,3	
Aflatoxine G_2	$C_{17}H_{14}O_7$	330,3	

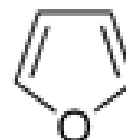
Figure 24 : Les principales Aflatoxines (4, 72)

La structure générale des AF est constituée d'un cycle coumarinique et de deux furanes (figure 25), auxquels peuvent être accolés un cycle pentone (Aflatoxines B et M) ou un cycle lactone hexagonal (Aflatoxines G). Les structures diffèrent entre elles par la position de leurs radicaux sur le squelette de base.

Coumarine



Furane



b. Propriétés physico-chimiques

Les Aflatoxines sont des molécules de faibles poids moléculaires (312 à 330 g/mol). Elles sont très peu solubles dans l'eau (10 à 30 µg/ml), insolubles dans les solvants non polaires et très solubles dans les solvants polaires comme le chloroforme et le méthanol (4).

Figure 25 : Structure générale des Aflatoxines

Sous lumière UV, les Aflatoxines B émettent de manière intense une fluorescence bleue, tandis que les Aflatoxines G émettent une fluorescence verte (73). Ces couleurs sont d'ailleurs à l'origine de leurs dénominations : « B » pour *Blue* et « G » pour *Green*. Le « M » provient quant à lui du nom de l'aliment à partir duquel les Aflatoxines M ont été extraites pour la première fois : « M » pour *Milk*.

Les pH extrêmes, supérieurs à 10 et inférieurs à 3, entraînent une instabilité de ces structures, également sensibles aux agents oxydants. La température minimale de décomposition s'élève à 237°C. Cette température peut atteindre 299°C pour les structures les plus thermostables telles que les Aflatoxines M (4). Cette propriété les rend particulièrement résistantes aux traitements thermiques comme la congélation, la pasteurisation ou encore la stérilisation.

c. Moisissures productrices - Toxinogène

Les AF sont produites principalement par trois espèces appartenant au genre *Aspergillus* : *A. flavus*, *A. nomius* et *A. parasiticus* (13). *Aspergillus flavus* produit essentiellement les Aflatoxines du groupe B (74) tandis qu'*Aspergillus parasiticus* sécrète les quatre Aflatoxines principales appartenant aux groupes B et G (75).

Ce sont des espèces fréquemment retrouvées dans les zones chaudes et humides. Elles ont été mises en évidence dans les denrées alimentaires telles que les noix (arachides, pistaches, noisettes...), les grains (maïs, millet, sorgho...), le coton, les épices ainsi que le lait (76).

La prolifération fongique et la production d'AF ont lieu au champ et au moment du stockage. La contamination par la moisissure et la toxinogène sont facilitées par les mauvaises conditions de stockage, de transport et d'hygiène. En effet, l'humidité excessive, la sécheresse, les températures élevées sont autant de facteurs facilitant la croissance fongique et la toxinogène (4).

Les conditions optimales de croissance et de production d'AF nécessitent une activité en eau faible, de l'ordre de 0,84 à 0,86, ainsi qu'une température comprise entre 25 et 40°C.

Par ailleurs, une contamination conjointe avec une autre mycotoxine peut avoir un effet amplificateur sur la production d'une des toxines. C'est le cas de la production d'Aflatoxines si le substrat est déjà contaminé par des Fumonisines (78).

d. Toxicocinétique

L'absorption des AF est possible par voie orale et trachéale. Elle est relativement rapide et s'effectue au niveau de l'intestin grêle, plus précisément au niveau du duodénum (79). Les toxines sont ensuite transportées dans l'organisme grâce au phénomène de fixation aux protéines plasmatiques, notamment à l'albumine.

La distribution de l'AFB₁ a lieu principalement au niveau du foie via la veine porte. Elle s'effectue à partir du plasma sanguin vers les hépatocytes, par un processus de diffusion passive à travers les membranes cellulaires (80). La distribution au sein même de la cellule se fait essentiellement au niveau du noyau, du réticulum endoplasmique, du cytosol et des mitochondries (81).

Le métabolisme hépatique de l'AFB₁ se produit en deux étapes. La phase I s'effectue par l'intermédiaire des cytochromes hépatiques P450 (CYP450). Sous l'action des CYP450, notamment le cytochrome P1A2 (CYP1A2), l'AFB₁ donne par hydroxylation l'AFM₁ et par époxydation l'AFB₁-8,9-époxyde, le métabolite le plus toxique (figure 26).

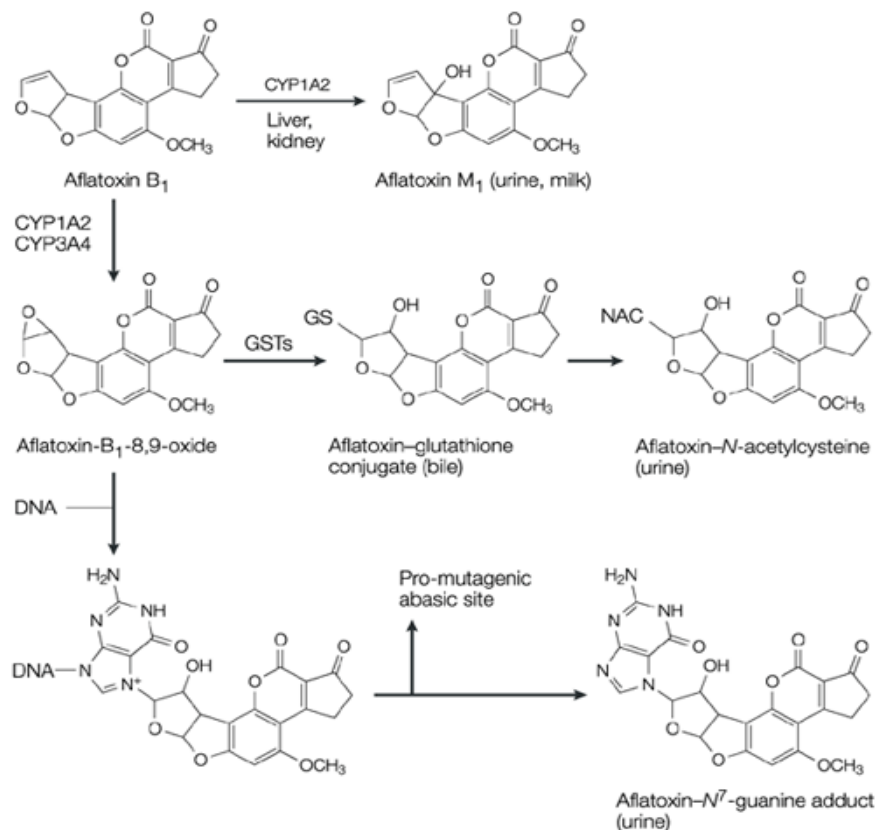


Figure 26 : Voies de métabolisme et d'élimination de l'Aflatoxine B₁ (82)

L'Aflatoxicol, l'AFM₁, l'AFQ₁ et l'AFP₁ sont d'autres composés qui résultent du métabolisme de l'AFB₁ (76). La phase II concerne le devenir de l'AFB₁-8,9-époxyde (développé plus loin). L'AFB₁ n'est pas directement néfaste, c'est sa métabolisation qui active sa toxicité. Bien que le métabolisme hépatique soit prédominant, un métabolisme pulmonaire est possible par l'intermédiaire d'enzymes oxydantes : la lipo-oxygénase et la prostaglandine-H-synthétase (76).

L'élimination est principalement biliaire (figure 26). Elle représente environ 50 % de la dose excrétée chez la plupart des espèces animales, tandis que la voie urinaire représente 15 à 25 % de la dose ingérée (83). La détoxification de l'AFB₁-8,9-époxyde s'effectue principalement par conjugaison au glutathion par le biais de la glutathion-S-transférase. Une partie de l'AFB₁ est éliminée dans la bile, conjuguée au glutathion ou à l'acide glucuronique. Elle peut être excrétée dans les urines sous forme inchangée ou sous forme métabolisée (76). 1 à 10 % de l'AFB₁ restent liés de façon covalente aux protéines hépatiques plusieurs jours après l'ingestion (83). Chez certains animaux, il semblerait que les Aflatoxines persistent dans le foie et le rein sous forme liée et non métabolisée (84).

e. Toxicité

L'AFB₁ possède des propriétés cancérigènes, hépatotoxiques, tératogènes et immunotoxiques. Des groupes B et G, l'AFB₁ est le composé présentant le potentiel toxique le plus important. L'Aflatoxine B₁ est la seule mycotoxine ayant un rôle avéré dans l'apparition de certains cancers du foie (85). C'est la raison pour laquelle elle a été déclarée agent cancérigène pour l'Homme par le CIRC (groupe 1).

Les effets d'une toxicité aiguë varient d'une espèce animale à l'autre suivant l'âge, le sexe, l'état général et le mode de contamination. Chez l'animal, l'intoxication aiguë se traduit par un malaise, une perte d'appétit, un ictère, de l'ascite puis par le décès rapide de l'individu. Le foie présente un aspect décoloré, un volume augmenté, des lésions nécrotiques ainsi que des foyers d'infiltration graisseuse. Des lésions rénales et une congestion des poumons sont aussi observables (76). Chez l'Homme, les cas de toxicité aiguë sont rares. Les derniers cas d'intoxication aiguë remontent aux débuts des années 2000 au Kenya, et ont été attribués à l'ingestion de maïs contaminés (86). L'exposition à des doses massives d'Aflatoxines entraîne un ensemble de symptômes ressemblant à une hépatite aiguë : vomissements, ictère, douleurs abdominales, hépatomégalie et œdèmes (76).

Dans le cas d'une intoxication chronique, le foie est la cible privilégiée des Aflatoxines. Elle est fréquemment observée chez les animaux d'élevage (volailles, porcs, ruminants...). La toxicité chronique se manifeste par une diminution de la prise alimentaire, une asthénie voire un coma dans les cas très sévères (76). De même que pour une intoxication aiguë, le foie est pâle et présente des lésions de fibrose et parfois de cirrhose.

Outre son rôle dans l'apparition d'hépatocarcinomes, l'exposition chronique aux Aflatoxines semble être à l'origine de troubles de la reproduction et de malformations fœtales (70).

Des études sur des souris ont mis en évidence des anomalies du nombre et de la morphologie des spermatozoïdes, ainsi que des malformations squelettiques et cardiaques chez les nouveaux nés (76).

D'autre part, les effets immunosuppresseurs de l'AFB₁ rendent les espèces animales sensibles aux infections opportunistes, par diminution de la réponse inflammatoire de l'organisme (76).

f. Mécanisme d'action

i. Formation d'adduits à l'ADN

Les effets cancérigènes et mutagènes de l'AFB₁ sont dus à sa biotransformation par les CYP450, ayant pour résultat la formation d'AFB₁-8,9-époxyde. L'AFB₁-8,9-époxyde a une durée de vie courte mais est particulièrement réactif : il est considéré comme le principal métabolite génotoxique via sa fixation à l'ADN (70). L'AFB₁-8,9-époxyde va se lier de manière covalente à l'ADN, l'ARN et les protéines. Il a une affinité particulière pour l'azote N₇ de la guanine. La réaction d'addition de ces deux composés aboutit à la formation d'un adduit à l'ADN : le trans-8,9-dihydro-8 (7-guanyl)-9-hydroxy-AFB₁. C'est la présence de cet adduit qui est à l'origine des mutations (87). La mutation la plus fréquemment observée est la transversion G en T, c'est-à-dire le remplacement d'une base nucléique guanine par une thymine (76). Les mutations les plus étudiées concernent les gènes suppresseurs de tumeurs (gène p53, oncogène *ras*) et les gènes codant pour la glutathion-S-transférase, enzyme permettant la détoxification de l'AFB₁-8,9-époxyde (76).

Il existerait une relation entre cancer hépatique et infection simultanée par le virus de l'hépatite B (VHB). L'infection par le VHB aurait pour conséquence d'augmenter le métabolisme des AF et de diminuer l'activité de la glutathion-S-transférase, et par conséquent la détoxification des composés néfastes (87).

ii. Métabolisme des protéines

L'effet immunosuppresseur semble être dû à l'altération de la synthèse des acides nucléiques et des protéines. Il a pour conséquences de provoquer une diminution de la prolifération, de la maturation et de la production des lymphocytes et cytokines (médiateurs de la signalisation cellulaire), une diminution de la capacité de phagocytose des macrophages, ainsi qu'une diminution des fonctions neutrophile et inflammatoire (70).

2. Ochratoxines

L'Ochratoxine A (OTA) a été isolée pour la première en 1969 par des chercheurs sud-africains à partir de souches d'*Aspergillus ochraceus* (88). À ce jour, neuf Ochratoxines ont été identifiées. De toutes les Ochratoxines, c'est l'OTA qui est la plus abondante mais aussi la plus toxique (76).

a. Structure

Les Ochratoxines sont des dérivés de la phénylalanine, un acide aminé cyclique (annexe 2). L'Ochratoxine A est un métabolite secondaire constitué d'une molécule de 3-méthyl-5-chloro-8-hydroxy-3,4-dihydrocoumarine couplée, par une liaison peptidique (liaison covalente entre un groupement carboxyle et une amine), à la L-phénylalanine (4, figure 27).

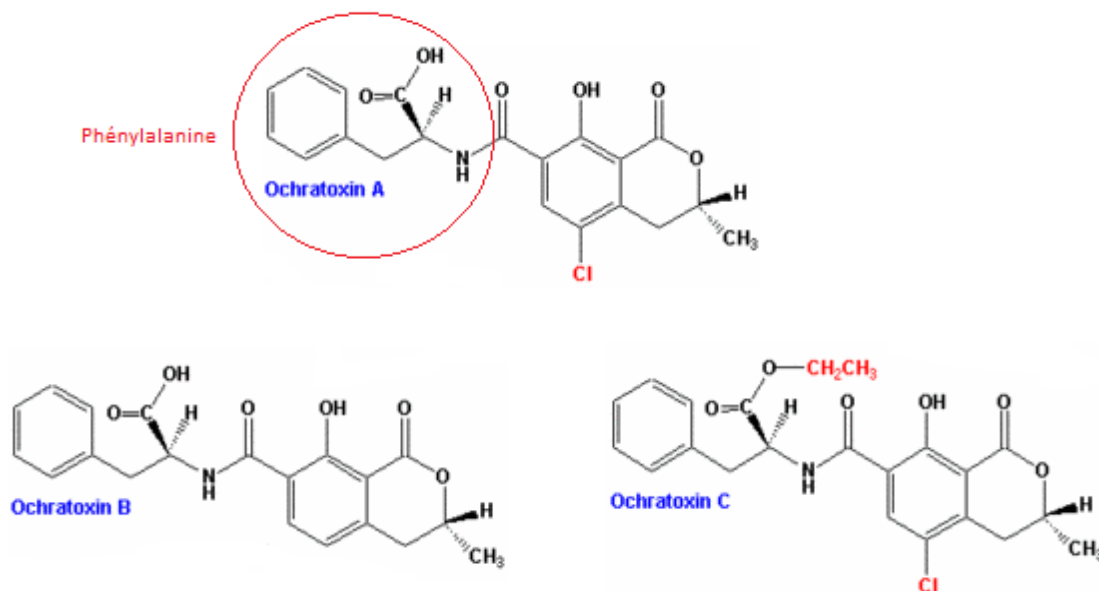


Figure 27 : Structures chimiques des Ochratoxines A, B et C (90)

Les structures des autres Ochratoxines sont similaires à celle de l'OTA, ainsi l'Ochratoxine B (OTB) est le dérivé non chloré de l'OTA et l'Ochratoxine C (OTC) est son ester éthylique (91). La formule brute de l'OTA est C₂₀H₁₈ClNO₆ et sa dénomination complète est : L-phénylalanine, N-[(5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-méthyl-1-oxo-1H-2-benzopyran-7-yl)-carbonyl]-(R)-isocoumarine (91,92).

b. Propriétés physico-chimiques

L'OTA est un acide organique faible de pK_a égal à 7,1. C'est un solide cristallin blanc ayant une masse molaire de 403,8 g/mol. A pH neutres et acides, l'OTA est soluble dans les solvants organiques polaires et très peu soluble dans les solutions aqueuses. A pH basiques, elle est soluble dans les solutions aqueuses de bicarbonate de sodium, et de manière générale dans les solutions aqueuses alcalines.

Son point de fusion est de 90°C lorsqu'elle est sous forme cristallisée dans le benzène, et de 169°C lorsqu'elle est cristallisée dans le xylène (93).

L'OTA présente une fluorescence importante sous ultraviolets : de couleur verte en milieu acide, et bleue en milieu alcalin. Cette fluorescence est à l'origine des méthodes de détection et de dosage de l'Ochratoxine A (94).

En raison de la stabilité de sa structure chimique, l'OTA résiste aisément aux procédés industriels de transformation. Elle est dégradée partiellement dans des conditions normales de cuisson (95) mais est totalement détruite par des solutions d'hypochlorite de sodium, NaClO (96). D'autre part, l'Ochratoxine A est instable à la lumière et à l'air ; elle se dégrade rapidement après une courte exposition à la lumière et à l'humidité.

c. Moisissures productrices - Toxinogénèse

Il existe une vingtaine de micromycètes capables de produire de l'Ochratoxine A. *Aspergillus ochraceus* et *Penicillium verrucosum* sont les deux principales espèces productrices d'OTA. *Penicillium verrucosum* et *Aspergillus carbonarius* sont plutôt retrouvés sous les climats froids et tempérés tandis qu'*Aspergillus ochraceus* croît préférentiellement dans les régions chaudes et tropicales. Ce sont des moisissures connues pour se développer de préférence sur les oléagineux et les céréales comme le maïs, le blé, le seigle, l'orge et l'avoine. Mais elles peuvent contaminer toutes sortes de denrées alimentaires telles que les abats, les viandes, le cacao, les fruits secs, le lait de vache, les farines... L'OTA est parfois présente en quantité importante dans le café, car elle résiste très bien à la torréfaction qui soumet les grains de café à une très forte chaleur pendant une courte période (4, 70, 97).

L'Ochratoxine A est un contaminant fréquent des vins : *Aspergillus carbonarius* est le premier responsable de la production d'OTA dans les vignobles méditerranéens (70).

La production d'OTA est assujettie aux conditions climatiques (humidité, température...). En effet, l'OTA est produite de manière optimale par *Aspergillus ochraceus* pour une température de 28°C, qui peut toutefois s'abaisser à 15°C (98), et pour un A_w de 0,79. Néanmoins, d'autres espèces sont moins soumises aux conditions environnementales, comme *Penicillium viridicatum* qui a la possibilité de produire de l'OTA pour un large intervalle de températures allant de 4 à 30°C (99). Par ailleurs, la disponibilité en eau (A_w) peut être faible pour la production d'OTA, allant de 0,83 à 0,90 (14). L'OTA se retrouverait surtout dans les aliments acides (100).

Les champignons producteurs d'OTA peuvent également sécréter d'autres mycotoxines. La présence simultanée d'autres toxines, dans le même milieu, aurait pour conséquence un phénomène de synergie augmentant les effets néfastes de l'OTA. Ainsi l'OTA peut cohabiter avec la Citrinine, les Aflatoxines ou encore les Fumonisines (101, 102).

d. Toxicocinétique

L'absorption de l'OTA se produit majoritairement au niveau du jéjunum, la partie centrale de l'intestin grêle qui se situe entre le duodénum et l'iléon. Elle est moindre au niveau de l'estomac et du duodénum. Elle est facilitée par le fait que l'Ochratoxine A possède un faible pouvoir acide et se trouve sous forme non ionisée à pH bas (70). L'absorption de la forme non ionisée s'effectue par diffusion passive, sans besoin en énergie, au travers de la paroi digestive, ou par transport actif via des transporteurs de la phénylalanine (103).

L'OTA est ensuite **distribuée** dans tout l'organisme par l'intermédiaire du système porte au niveau hépatique (104). L'OTA est peu présente sous sa forme libre dans la circulation sanguine car elle présente une forte affinité pour les protéines plasmatiques, et notamment l'albumine humaine : le taux de fixation à cette protéine oscille entre 90 % et 99 % (76). Cette propriété est à l'origine de la très longue demi-vie sérique de l'Ochratoxine A et de son retard de distribution aux différents organes. On estime à 35,5 jours la valeur de cette demi-vie (105). Elle contribue à la forte toxicité de l'OTA et à l'apparition d'effets chroniques. Cette demi-vie est d'autant plus importante qu'une réabsorption est possible au niveau des tubes collecteurs rénaux (106). L'OTA continue de s'accumuler dans le rein plus d'un mois après l'arrêt de la contamination, entraînant ainsi un possible retour dans la circulation sanguine. Les reins et le foie sont les deux principaux organes cibles de la distribution d'OTA (4).

La métabolisation de l'OTA aboutit à la formation d'une vingtaine de composés différents (figure 28). Les plus abondants sont les suivants :

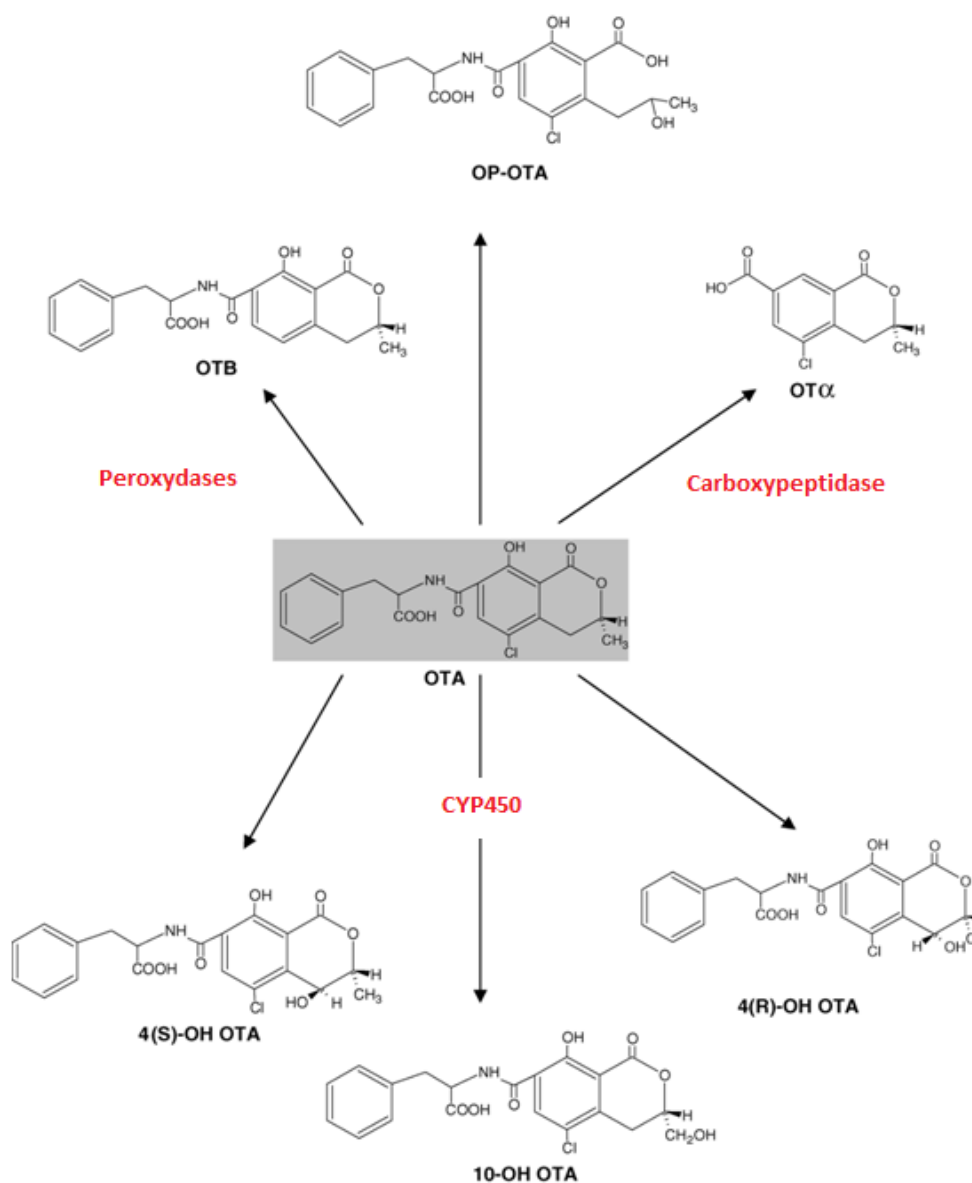


Figure 28 : Les principaux métabolites de l'Ochratoxine A (107)

Après ingestion, l'OTA subit une première hydrolyse par des enzymes protéolytiques de la digestion, la carboxypeptidase A et l' α -chymotrypsine, aboutissant à la formation d'Ochratoxine α (OT α), non toxique, et de phénylalanine (108).

Au niveau hépatique, les peroxydases de types cyclo-oxygénases, lipo-oxygénases et glutathion peroxydases permettent la biotransformation de l'OTA en Ochratoxine B (OTB), analogue non-chloré de l'OTA (109). Une autre voie de transformation hépatique met en jeu des cytochromes du complexe CYP450 qui permettent la métabolisation de l'OTA en métabolites mineurs, hydroxylés et moins toxiques (110) : les 4R et 4S-hydroxy-Ochratoxine A (4-OH-OTA) et la 10-hydroxy-Ochratoxine A (10-OH-OTA).

Les voies d'**élimination** de l'OTA sont multiples : voies urinaire, fécale et biliaire. 30 à 40 % de l'OTA absorbée sont majoritairement éliminés dans les urines sous forme inchangée ou sous forme d'OT α (111). Les Ochratoxines hydroxylées sont quant à elles plutôt éliminées par voie biliaire (70). Une partie de cette OTA excrétée dans les urines est réabsorbée et remise en circulation dans le sang. L'OTA est éliminée très lentement contrairement à ses métabolites qui le sont nettement plus rapidement (4).

e. Toxicité

La toxicité de l'OTA est très variable : elle dépend avant tout de l'espèce contaminée, du sexe et de la voie d'administration (4).

L'OTA est surtout reconnue pour sa toxicité rénale. C'est en effet un néphrotoxique puissant ; les signes d'une atteinte rénale apparaissent rapidement à faibles doses (101). Le rein est donc l'organe cible de l'Ochratoxine A. L'OTA agit en inhibant les mécanismes de transports anioniques des membranes des cellules tubulaires (103, 111), par arrêt de la production d'Adénosine TriPhosphate (ATP) par les mitochondries (112). L'OTA est filtrée et réabsorbée dans les tubules proximaux et s'y accumule, diminuant ainsi son élimination dans les urines. L'OTA serait en cause dans la Néphropathie Endémique des Balkans (NEB) caractérisée par une insuffisance rénale chronique et une tubulonéphrite interstitielle. Elle serait aussi à l'origine de cancers rénaux et hépatiques chez l'Homme. Bien que son pouvoir cancérigène soit établi chez l'animal, l'OTA est classée comme cancérigène possible pour l'Homme (76) par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC).

Chez l'animal, l'OTA est responsable d'anomalies et de malformations morphologiques. L'OTA traverse aisément le placenta et s'accumule ainsi dans les tissus fœtaux (76). On observe chez les porcins et les volailles, soumis à une dose massive et unique d'OTA, une augmentation de la mortalité fœtale (4).

Au niveau immunitaire, l'OTA permet la déplétion cellulaire des organes lymphoïdes tels que la rate et le thymus (113, 114). À cet aspect immunotoxique s'additionne une atteinte de la moelle osseuse qui se traduit par une modification des différentes lignées de globules blancs et du nombre de cellules immunitaires (lymphopénie).

L'OTA inhibe la prolifération des lymphocytes T et B, et empêche la production d'Interleukine 2 (IL2) qui a pour rôle de stimuler la réponse immunitaire de l'organisme (114).

f. Mécanisme d'action

i. *Formation d'adduits à l'ADN*

À ce jour, le mécanisme d'action génotoxique de l'OTA n'est pas entièrement élucidé. Deux possibilités ont été avancées pour tenter d'expliquer ce phénomène cancérigène. La première hypothèse suggère que l'Ochratoxine A provoque un flux de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO). Ce sont des espèces chimiques oxygénées (comme les radicaux libres, les ions oxygénés ou encore les peroxydes) rendues chimiquement très réactives par la présence d'électrons de valence non appariés. Ces composés génèreraient un stress oxydant très important, causant ainsi des dommages oxydatifs et des cassures des brins d'ADN. La seconde hypothèse propose la possibilité que l'OTA subisse une bio-activation menant à la formation d'espèces électrophiles, c'est-à-dire déficientes en électrons, qui réagiraient avec l'ADN par la formation d'adduits liés de manière covalente (115).

ii. *Métabolisme des lipides*

L'OTA augmente la peroxydation des lipides. C'est le phénomène à l'origine de l'oxydation des acides gras polyinsaturés. L'OTA aurait donc un effet néfaste sur les lipides constituant les membranes cellulaires phospholipidiques, processus qui serait à l'origine d'altérations structurales (116).

iii. *Métabolisme des protéines*

L'inhibition de la synthèse protéique s'effectue au niveau post-transcriptionnel (copie de l'ADN en ARN) ; la compétition entre l'OTA et la phénylalanine, lors de la réaction d'acylation entre l'ARN de transfert et la phénylalanine (catalysée par la phénylalanine-ARN_t synthétase), empêche l'élongation du futur peptide (117).

iv. *Métabolisme des glucides*

Le pouvoir diabétogène de l'Ochratoxine A découlerait de sa capacité à inhiber la glycolyse et la synthèse d'insuline (70), et de son implication dans l'augmentation de la peroxydation lipidique. Cet effet provient de l'inhibition de la synthèse de l'ARN messager qui code pour le phosphoénolpyruvate carboxykinase (118), enzyme intervenant dans la néoglucogenèse (synthèse de glucose à partir de molécules non glucidiques).

v. *Respiration cellulaire*

L'altération des transporteurs de phosphates de la membrane des mitochondries, l'inactivation de l'activité ATP-asiq, ainsi que l'inhibition de la synthèse d'enzymes indispensables au cycle de Krebs, entraînent une diminution de la respiration mitochondriale.

3. Fumonisines

Le groupe des Fumonisines est constitué d'une quinzaine de molécules différentes, réparties en 4 groupes : les Fumonisines A, B, C et P. Elles ont été identifiées assez tardivement en 1988 (119). Elles sont souvent à l'origine d'atteintes du système nerveux chez les équidés consommant de l'avoine et du maïs contaminés par des moisissures du genre *Fusarium*. Ce groupe de toxines fait partie des Fusariotoxines, toxines produites par *Fusarium spp.* Les Fumonisines les plus fréquemment rencontrées sont les Fumonisines du groupe B (FB).

a. Structure

Chimiquement, leur structure de base est proche de celle de la sphingosine, molécule à 18 atomes de carbone à l'origine de la synthèse des sphingolipides, qui entrent dans la composition de la structure des membranes plasmiques. Les Fumonisines sont donc des analogues structuraux des acides gras (figure 29).

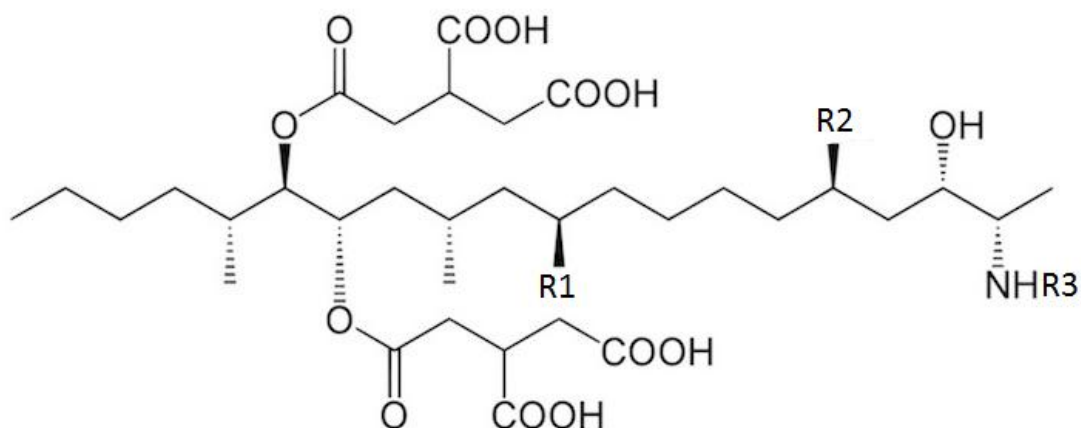


Figure 29 : Structure chimique générale des Fumonisines (6)

Dénominations	R1	R2	R3
Fumonisine A1	OH	OH	NHCOCH ₃
Fumonisine A2	H	OH	NHCOCH ₃
Fumonisine B1	OH	OH	NH ₂
Fumonisine B2	H	OH	NH ₂
Fumonisine B3	OH	H	NH ₂
Fumonisine B4	H	H	NH ₂
Fumonisine C1	OH	OH	NH ₂
Fumonisine C2	H	OH	NH ₂
Fumonisine C3	OH	H	NH ₂
Fumonisine C4	H	H	NH ₂
Fumonisine P1	OH	OH	OH-Pyr
Fumonisine P2	H	OH	OH-Pyr
Fumonisine P3	OH	H	OH-Pyr

Figure 30 : Structures chimiques des principales Fumonisines (4, 6)

La structure de base des Fumonisines (figure 29) est constituée d'une longue chaîne carbonée, hydroxylée, portant des groupements méthyles (-CH₃) et amines primaires (-R-NH₂). À cette structure viennent s'ajouter des groupements méthyles, amines, acétylamines et pyridines, permettant la distinction entre les différentes Fumonisines (4, figure 30).

La Fumonisine B₁ (FB₁) résulte en fait de l'estérification de deux molécules de 1,2,3-propane-tricarboxylique et du 2-amino-12,16-diméthyl-3,5,10,14,15-pentanehydroxyeicosane (120). La FB₁, de formule brute C₃₄H₅₉NO₁₅, est encore dénommée Macrofusine. Les autres toxines du groupe B sont des analogues deshydroxylés de la FB₁ (121).

Les Fumonisines du groupe B ne présentent pas quant à elles de groupement méthyle en R3. Les FB se distinguent entre elles par la présence, ou non, de groupements hydroxyles (-OH) en R1 et R2 (122, figure 30). Les Fumonisines du groupe P se différencient des Fumonisines des autres groupes par la présence en R3 d'un cycle pyridine (figure 30).

b. Propriétés physico-chimiques

Les Fumonisines sont des solides amorphes, solubles dans l'eau et le méthanol, et insolubles dans les solvants non polaires. C'est la présence de fonctions carboxyliques (-COOH) dans leur structure qui leur confère une forte polarité et un pouvoir hydrophile (76). Les masses molaires sont de 722 g/mol pour la FB₁ et de 706 g/mol pour la FB₂. Leur point de fusion est assez bas, voisin de 105°C (123).

Contrairement aux autres toxines déjà citées, les Fumonisines n'ont aucune propriété fluorescente. Comme elles n'absorbent pas les ultraviolets, leur détection est compliquée. Leur étude passe donc par la formation contrôlée de dérivés détectables (4), jouant le rôle de biomarqueurs.

Bien que les procédés mettant en œuvre de fortes températures (friture et cuisson au four) permettent leur destruction, les FB₁ et FB₂ sont relativement thermostables en milieu aqueux (124). Cette thermostabilité leur permet de subsister dans les produits alimentaires transformés.

Par ailleurs, la stabilité de la FB₁ est fonction du pH : pour une température de 150°C, la destruction des Fumonisines est facilitée pour des pH proches de 10 ou des pH inférieurs à 4. Mais c'est pour des pH neutres que la structure des Fumonisines est la plus stable (125).

c. Moisissures productrices - Toxinogène

Les Fumonisines sont des mycotoxines uniquement produites par des micromycètes du genre *Fusarium*, les deux espèces les plus actives étant *Fusarium proliferatum* et *Fusarium moniliforme* (aussi nommé *Fusarium verticillioides*). Cette dernière est une moisissure endophyte, c'est-à-dire qu'elle peut coloniser une plante sans que celle-ci ne développe de signes visibles. Un plant peut donc être contaminé et pourtant paraître sain.

Le genre *Fusarium* infeste feuilles, grains et racines (4). C'est un parasite courant des végétaux et plus particulièrement du maïs (126). De plus, c'est une espèce cosmopolite adaptée aussi bien aux climats tempérés qu'aux régions chaudes et humides. Elle est un peu moins présente dans les régions froides.

L'infestation du végétal par *Fusarium spp* peut être exogène ; elle se produit via des éléments extérieurs tels que les insectes, les oiseaux ou encore le vent. Mais l'infestation peut aussi être endogène ; dans ce cas la semence est contaminée avant la germination (70).

Les moisissures du genre *Fusarium* sont thermotolérantes, ce qui signifie qu'elles peuvent se développer dans une fourchette de températures comprises entre 5 et 40°C, et de façon optimale pour une température de 35°C. Au-delà de 40°C, plus aucune croissance n'est observée. Par ailleurs, la toxine n'est plus produite à partir de 35°C ; elle peut être produite dès 4°C, bien qu'une température de 20°C soit optimale pour sa production (127). La demande en eau libre (A_w) pour la toxinogénèse est bien supérieure à celle nécessaire à la croissance du champignon. Ainsi, la production de toxines peut être divisée par 300 lorsque la valeur de l'activité de l'eau passe de 1 à 0,9 (128). Par ailleurs, l'humidité du substrat doit être de 32 % pour que la production de Fumonisines soit maximale (4).

Comme pour la moisissure, la toxine résiste très mal aux atmosphères confinées ou modifiées, riches en diazote (N_2) ou en dioxyde de carbone (CO_2).

d. Toxicocinétique

La voie principale d'**absorption** est la voie orale. Aucune donnée ne permet à ce jour d'affirmer ou d'infirmer la possibilité d'une contamination par voie pulmonaire et par voie cutanée. Néanmoins, puisque la FB_1 est présente au sein même des cellules de *Fusarium spp*, il existerait un risque d'absorption par inhalation lors de la manipulation de denrées contaminées. La contamination par voie cutanée reste très peu probable du fait de la forte polarité et de l'hydrophilie des Fumonisines (129). Chez la plupart des animaux, les études toxicocinétiques de la FB_1 mettent en évidence une absorption faible et une distribution rapide (70).

Après absorption, la Fumonisine B_1 est **distribuée** dans l'ensemble des tissus et s'accumule principalement dans le foie et les reins (130).

Le métabolisme complet de la FB_1 chez l'Homme n'est pas entièrement élucidé. Cependant, la principale forme d'**élimination**, biliaire et rénale, est la FB_1 sous forme inchangée. Chez le singe, les Fumonisines sont éliminées majoritairement dans les fèces soit sous forme native, c'est-à-dire inchangée, soit sous forme partiellement hydrolysée, tandis que la fraction urinaire de FB_1 est composée de 96 % de FB_1 non hydrolysée (70). Le métabolisme s'effectuerait donc dans le tractus intestinal, sous l'impulsion des micro-organismes digestifs, et non pas dans le foie étant donné l'absence de métabolites dans les voies biliaires (131). La voie biliaire est la principale voie d'élimination, suivie par les voies urinaire et fécale (130).

e. Toxicité

Chez toutes les espèces animales étudiées, la principale cible de la Fumonisine B₁ est le foie (70). Des atteintes rénales ont aussi été observées chez le porc et le rat, ainsi que des atteintes cérébrales chez le cheval (76).

L'exposition aiguë aux Fumonisines chez les équidés induit l'apparition d'une leucoencéphalomalacie équine. Cette affection se traduit par l'apparition de lésions nécrotiques dans les substances blanches et grises du tissu cérébral. Cette maladie mortelle n'a été pour le moment observée que chez les chevaux ayant consommé du maïs ou de l'avoine contaminés (132). Chez le porc, l'exposition aiguë se manifeste par le développement d'un œdème pulmonaire. Chez l'Homme, la FB₁ serait responsable de douleurs abdominales et de diarrhées.

Dans les études menées chez le rat, des effets néphrotoxiques et hépatotoxiques ont été observés suite à une exposition chronique à la FB₁. L'atteinte rénale se manifeste par une diminution du volume du rein et par des lésions au niveau des tubules proximaux (70). D'autres effets ont été observés, comme une nécrose du myocarde associée à un œdème pulmonaire sévère (121).

Ces études ont aussi démontré la non-génotoxicité des Fumonisines (76). Toujours chez les rongeurs, l'apparition de cancers varie en fonction de l'espèce, de l'âge, du sexe et de la souche fongique en jeu. L'apparition d'adénomes et de carcinomes a été associée à la consommation de denrées contaminées. La Fumonisine B₁ a été classée en 2002 dans le groupe 2B du CIRC, c'est-à-dire dans le groupe des agents potentiellement cancérogènes pour l'Homme.

Chez les souris et le poulet, la FB₁ est embryotoxique ; elle provoque des anomalies de formation du tube neural et des altérations crânio-faciales. Elle serait à l'origine de cas d'avortements de truies, constatés aux États-Unis (133).

Les données actuelles indiquent que la FB₁ a un impact immunologique par altération de la synthèse des cytokines et de la réponse immunitaire à médiation cellulaire, ouvrant ainsi la porte à diverses infections opportunistes (70).

f. Mécanisme d'action

i. Action sur les sphingolipides

Le mécanisme d'action de la Fumonisine B₁ repose sur son analogie structurale avec la sphingosine, constituant principal des sphingolipides membranaires. Pour rappel, les sphingolipides sont des lipides complexes ayant un squelette constitué de 18 atomes de carbone.

Les sphingolipides sont divisés en plusieurs groupes dont les plus importants sont les suivants :

- **Les sphingoïdes** : comprenant la sphingosine (figure 31) et la sphinganine. Ce sont les constituants de base des autres sphingolipides.

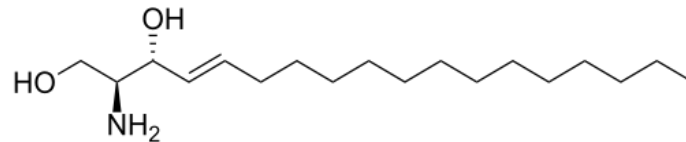


Figure 31 : Structure chimique de la Sphingosine (6)

- **Les céramides** : ce sont les précurseurs des sphingolipides. Ils dérivent des sphingoïdes par fixation d'un acide gras.
- **Les sphingomyélines** : elles entrent directement dans la composition de toutes les membranes cellulaires, et plus particulièrement dans la gaine de myéline des cellules neuronales.
- **Les cérébrosides**, ou glycosphingolipides : ce sont des glycolipides importants des tissus nerveux. Le galactosylcéramide, qui dérive du galactose, en fait partie.

Les sphingolipides jouent un rôle important dans l'agencement structural, la croissance, l'apoptose (mort programmée de la cellule) et la différenciation cellulaire. Leur fonction est d'être des messagers intracellulaires lors de la transduction des signaux membranaires (134).

L'analogie structurale entre la FB₁ et la sphingosine a donc pour conséquence l'inhibition de la N-acétyltransférase (du groupe des acyltransférases), enzyme indispensable à la synthèse de céramides à partir de la sphingosine et de sphinganine (figure 32).

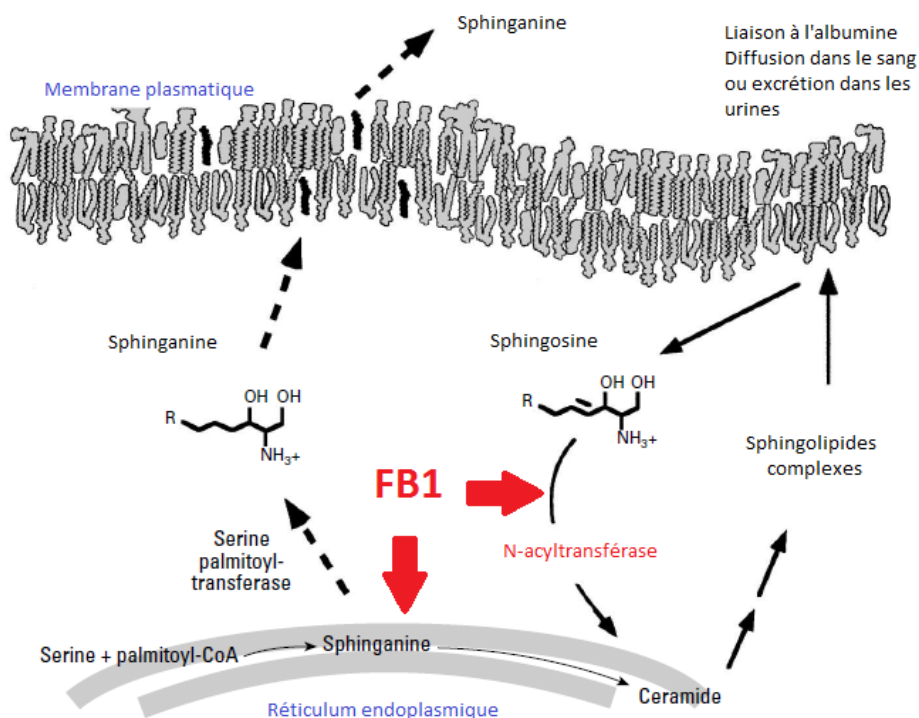


Figure 32 : Action de la FB₁ sur le métabolisme des sphingolipides (134)

Cette inhibition s'accompagne de l'accumulation de sphinganine et, dans une moindre mesure, de sphingosine, qui sont deux composés hautement réactifs. Une partie de la sphinganine accumulée est métabolisée rapidement à l'intérieur des cellules, par contre le reste est libéré dans le milieu extracellulaire. L'accumulation des sphingolipides peut conduire à une inhibition de croissance cellulaire ainsi qu'à un phénomène d'apoptose. D'autres effets sont observés comme la perte de fluidité membranaire et l'inhibition du fonctionnement de certaines enzymes (135).

ii. Autres modes d'action

La FB₁ ne forme pas d'adduits à l'ADN. Cependant, elle provoque des cassures simple-brin ainsi que des aberrations chromosomiques. La toxine modifierait la transduction du signal cellulaire, et de ce fait aurait un effet promoteur de cancers. Les mécanismes de cancérogenèse pourraient aussi impliquer une possible régénération compensatoire des cellules suite à l'apoptose causée par la FB₁ (136).

4. Zéaralénone

La Zéaralénone (ZEA) ou Toxine F-2, mycotoxine à action œstrogénique, a été isolée pour la première fois en 1962 à partir de maïs contaminé par le champignon *Gibberella zeae* (137), la forme téléomorphe de *Fusarium graminearum*.

a. Structure

La ZEA, de formule brute C₁₈H₂₂O₅, provient du métabolisme des polycétoacides. C'est une lactone (hétérocycle oxygéné) macrocyclique qui dérive de l'acide-β-résorcyclique (138). Sa dénomination scientifique complète est -(3S, 11E)-3,4,5,6,9,10-hexahydro-14,16-dihydroxy-3-méthyl-1H-2-benzoxacyclotétradécin-1,7(8H)-dione (138). Sa formule développée, ainsi que celles de ses principaux dérivés, sont représentées sur la figure 33.

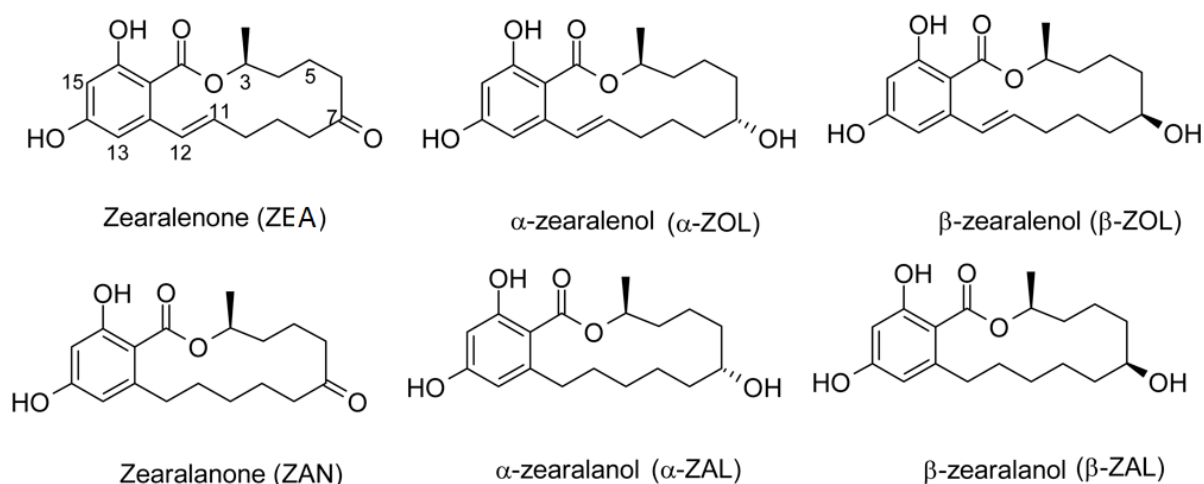


Figure 33 : Structures chimiques de la Zéaralénone et de ses principaux métabolites (139)

L' α -zéaralénol et la β -zéaralénol sont les dérivés réduits par hydroxylation en position « 7 » de la ZEA. L' α -zéaralanol et la β -zéaralanol sont les dérivés saturés en position « 12 » et hydroxylés en position « 7 » de la ZEA. Enfin, la Zéaralanone est un dérivé saturé de la ZEA en position « 12 » (4).

b. Propriétés physico-chimiques

La ZEA se présente sous la forme d'un solide cristallin de couleur blanche, de masse molaire égale à 318,4 g/mol. Son point de fusion est de 165°C (4).

La présence d'un carbone asymétrique en position « 3 » (figure 33) la rend optiquement active. Son pouvoir rotatoire, c'est-à-dire sa capacité à dévier un faisceau lumineux la traversant, est de $\alpha = -170,5^\circ$, à 25°C dans le méthanol. De plus, elle absorbe les rayons ultraviolets et présente une fluorescence bleu-verte lorsqu'elle est irradiée à 365 nm, ce qui permet de la doser par chromatographie (76).

Sa solubilité dans l'eau est plutôt faible, elle est de 20 mg/L à 25°C. Mais elle est soluble dans les solutions alcalines aqueuses ainsi que dans le chloroforme, l'acétonitrile, le benzène et les cétones (140).

Elle est thermostable ; les traitements thermiques, même à hautes températures, sont inefficaces pour la dégrader. Cependant, elle est hydrolysable en milieux basiques.

c. Moisissures productrices - Toxinogénèse

La ZEA est principalement produite par des moisissures du genre *Fusarium*, et particulièrement par *Fusarium graminearum*, la forme anamorphe de *Gibberella zeae* (137). D'autres espèces sont aussi capables de la synthétiser, c'est le cas de *F. semitectum*, *F. equiseti*, *F. crookwellense* et *F. culmorum* (78). Il a été montré que, dans des conditions d'humidité importante, *Aspergillus oryzae*, *A. parasiticus* et *A. versicolor* étaient également capables de synthétiser de la ZEA (141).

Les moisissures productrices de ZEA infectent le plus souvent les céréales avant la récolte, notamment lors de la floraison. La croissance fongique et la toxinogénèse peuvent aussi se produire dans des conditions médiocres de stockage. Les *Fusaria* sont omniprésentes sur le Globe (4) : on les retrouve surtout dans les zones climatiques tempérées et chaudes (Japon, États-Unis, Amérique du Sud, Océanie...). Elles contaminent de préférence les céréales comme le blé, l'avoine, l'orge, le riz et le maïs, mais aussi les cultures maraîchères et fruitières. Par ailleurs, il n'est pas rare de rencontrer dans les denrées contaminées par la ZEA des Trichothécènes (Déoxynivalénol) également produites par le genre *Fusarium* (142).

La contamination fongique se produit par dissémination des spores au niveau des feuilles, des tiges, des graines et des racines.

La croissance du champignon varie en fonction des conditions de récolte (récolte tardive, mauvaises conditions climatiques) et de stockage (humidité excessive). La production des *Fusaria* est favorisée par les basses températures situées entre 10 à 15°C (143). La toxigenèse est facilitée par la nature du substrat, pour lequel le rapport glucides/protéines doit être élevé, et par l'activité de l'eau qui doit être comprise entre 0,95 et 0,97 (sachant qu'un A_w de 0,90 empêche la production de Zéaralénone) (4).

d. Toxicocinétique

Des études chez le rat ont mis en évidence une **absorption** rapide de la Zéaralénone par voie orale. La diffusion passive se produit principalement au niveau de l'intestin grêle (144).

Après passage dans la circulation sanguine (145), la ZEA se lie à la *Sex Hormon-Binding Globulin* (SHBG), à l'instar des hormones sexuelles endogènes (4). Sa demi-vie plasmatique est estimée à 86 heures chez le porc (en injection intraveineuse). Cette valeur s'explique par la redistribution via le cycle entéro-hépatique et par la persistance de la ZEA dans les tissus adipeux (145). Elle est ensuite rapidement **distribuée** dans tout l'organisme. Ses cibles principales chez la souris sont les cellules des organes sexuels : cellules utérines, follicules ovariens et cellules interstitielles des testicules (4).

Il existe deux phases de **métabolisation** de la ZEA. La phase I concerne l'hydroxylation de la Zéaralénone sous l'action de la 3- α ou de la 3- β -hydroxystéroïde déshydrogénase hépatique, aboutissant à la formation d' α -zéaralénol et de β -zéaralénol (146). La deuxième phase permet la glucuroconjugaison ou la sulfoconjugaison de la ZEA et de ses métabolites. Par ailleurs, avant la phase d'absorption, la ZEA peut aussi être hydroxylée en α -zéaralénol et β -zéaralénol par la flore digestive et les entérocytes. Cette biotransformation s'effectue au niveau du gros intestin (côlon) et non au niveau de l'intestin grêle (147).

L'**élimination** de la ZEA peut se faire par voie biliaire, urinaire ou lactée. Les métabolites glucuroconjugés de la ZEA et de l' α -zéaralénol sont excrétés dans l'urine et les fèces (4). Chez le rat et la souris, le mode d'élimination principal est biliaire, tandis que chez le lapin et le porc c'est l'élimination urinaire qui prédomine (147). Il a été observé chez ces animaux un cycle entéro-hépatique permettant la réabsorption et la redistribution de la ZEA, et de ses dérivés, entraînant ainsi l'augmentation de leurs demi-vies. Chez l'Homme, on suppose que l'excrétion de la ZEA conjuguée est majoritairement urinaire (147).

e. Toxicité

La toxicité aiguë de la Zéaralénone, en raison de son activité de perturbateur endocrinien, provoque chez les animaux d'importants effets œstrogéniques. Ainsi chez la jeune truie, l'administration orale d'une dose unique de ZEA induit une forte inflammation ainsi que des œdèmes de la vulve (4). Chez le jeune mâle, une atrophie testiculaire et une augmentation des glandes mammaires sont fréquentes (4). Ces symptômes traduisent en réalité un phénomène d'hyperœstrogénisme (effets anti-androgènes et féminisation) à l'origine d'une baisse de fertilité (148).

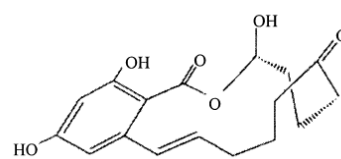
Chez l'Homme, du fait de sa faible sensibilité à la ZEA aux doses ingérées, la question de la toxicité se pose à plus long terme. Il est établi qu'à hautes doses elle est génotoxique et immunotoxique. Quant à son pouvoir oncogène, le CIRC reconnaît qu'elle est inclassable en ce qui concerne sa cancérogénicité chez l'Homme. La ZEA n'est pas considérée comme tératogène, cependant on observe à des doses modérées quelques malformations mineures du squelette, dues essentiellement à un retard d'ossification (16).

f. Mécanisme d'action

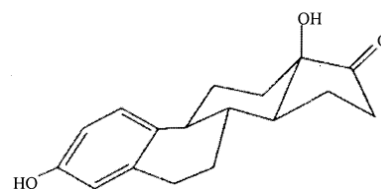
i. Effet œstrogénique

L'action œstrogénique de la ZEA s'explique par sa capacité à adopter une conformation spatiale proche de celles du 17 β -œstradiol et des autres œstrogènes naturels lors de leur liaison aux récepteurs œstrogéniques (147, figure 34). La ZEA induit donc un effet « œstrogène-like ». La ZEA et ses dérivés se fixent de façon compétitive aux récepteurs œstrogéniques.

Un des effets des œstrogènes est d'agir sur la perméabilité des cellules utérines, et d'accélérer la synthèse des acides nucléiques et celle des protéines. Les effets de la Zéaralénone sur l'utérus sont similaires : augmentation du poids utérin, augmentation de la synthèse des protéines, inhibition de l'ovulation, et modification de la perméabilité membranaire (147).



Zéaralénone



Estrone

Figure 34 : Conformations spatiales de la ZEA et de l'Estrone (147)

ii. Autres effets

La ZEA entraîne l'accumulation de glycogène dans le foie et dans les muscles squelettiques. C'est l'augmentation de l'insuline, associée à une baisse de la glycémie, qui serait à l'origine de ces effets (149).

Au niveau des mitochondries, la ZEA démultiplie la phosphorylation oxydative, phénomène permettant la formation d'ATP nécessaire aux réactions biochimiques de l'organisme. Ce processus est à la base de l'activité anabolisante de la Zéaralénone. La ZEA est utilisée comme intermédiaire à la synthèse du Zéaranol, anabolisant couramment utilisé aux États-Unis (6).

5. Alcaloïdes de l'ergot du seigle

Le terme « alcaloïde » désigne, de manière générique, un ensemble de molécules azotées et le plus souvent hétérocycliques. Elles proviennent majoritairement du métabolisme des végétaux et des champignons. Ce sont des métabolites secondaires issus de la voie des acides aminés. Les alcaloïdes de l'ergot forment un groupe qui comprend une quarantaine de molécules, toutes isolées de sclérotés de champignon du genre *Claviceps*.

Leur puissante activité pharmacologique leur vaut d'être largement utilisées en médecine. Certains sont analgésiques ou antimigraineux quand d'autres sont hypertenseurs.

a. Structure

Tous les alcaloïdes de l'ergot dérivent du même précurseur : l'Ergoline (annexe 3). L'Ergoline dérive elle-même d'un acide aminé, le tryptophane, et du diméthylallyl-pyrophosphate (issu de la condensation de l'acide mévalonique et de l'acétyl-coenzyme A) (150). Les alcaloïdes de l'ergot peuvent être classés en trois groupes (152, figure 35) :

- **Les dérivés de l'acide lysergique**, ou alcaloïdes ergoliniques, comprennent par exemple l'Ergotamine, l'Ergine ou encore la Méthysergide.
- **Les dérivés de la diméthylergoline**, ou Clavines, avec comme représentants la Chanoclavine, l'Agroclavine, la Penniclavine.
- **Les Ergopeptines** (qui dérivent aussi de l'acide lysergique) sont des alcaloïdes peptidiques qui comptent parmi eux l'Ergocristine, l'Ergotamine, la Dihydroergotamine et l'Ergovaline.

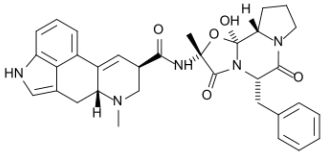
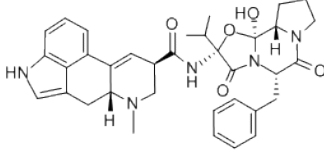
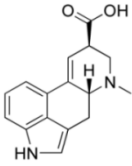
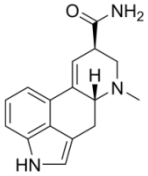
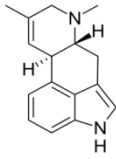
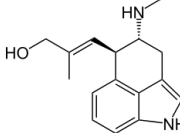
Alcaloïdes	Formule brute	Structure chimique
Ergotamine	$C_{33}H_{35}N_5O_5$	
Ergocristine	$C_{35}H_{39}N_5O_5$	
Acide Lysergique	$C_{16}H_{16}N_2O_2$	
Ergine	$C_{16}H_{17}N_3O$	
Agroclavine	$C_{16}H_{18}N_2$	
Chanoclavine I	$C_{16}H_{20}N_2O$	

Figure 35 : Structures chimiques de quelques alcaloïdes de l'ergot (6)

b. Propriétés physico-chimiques

De manière générale, les alcaloïdes de l'ergot se présentent sous la forme de cristaux incolores, peu solubles (voire insolubles) en solution aqueuse, et très solubles dans divers solvants organiques. Ils sont pour la plupart capables de capter un proton (ion H⁺), ils ont donc des propriétés alcalines.

Leur structure est très instable lorsqu'elle est soumise aux UV et à la chaleur (cuisson). Par ailleurs, les alcaloïdes sont très sensibles à l'oxydation photolytique c'est-à-dire qu'ils subissent une décomposition sous l'effet de la lumière (70).

Ce sont de petites molécules dont les masses molaires varient de 100 à 900 g/mol.

c. Moisissures productrices - Toxinogène

Le principal producteur d'alcaloïdes de l'ergot est *Claviceps purpurea*. L'ergot est le nom donné aux formes de résistance du genre *Claviceps*, les sclérotés. D'autres espèces appartenant à ce genre sont capables de produire des alcaloïdes : c'est notamment le cas de *Claviceps paspali*, *C. africana* et *C. fusiformis* (70, 76). *C. purpurea* produit principalement des Ergopeptines, *C. africana* des Clavines, et *C. paspali* est capable de produire à la fois des Clavines et des toxines trémorgènes (76). Mais les *Claviceps spp* ne sont pas les seuls champignons producteurs d'alcaloïdes ; il a été observé qu'*Aspergillus fumigatus* était aussi en mesure de produire des alcaloïdes de l'ergot tels que les Fumigaclavines A, B, C et la Festuclavine (153).

On retrouve le genre *Claviceps* dans toutes les régions du monde, mais c'est dans les régions tempérées qu'il est le plus souvent rencontré. Les principaux cas d'intoxication avaient été détectés en France, Brésil et aux États-Unis. Ce genre contamine surtout les graminées céréalières (blé, avoine, orge, seigle...) et les graminées fourragères (Ray-grass, fétuque...). La croissance du champignon s'effectue par l'intermédiaire des sclérotés qui remplacent les grains du végétal infesté. La quantité d'alcaloïdes contenue dans un sclérote fluctue entre 0,01 et 0,5 % (152).

La formation du sclérote est facilitée par des températures comprises entre 9 et 15°C (76), et par un taux d'humidité supérieure à 76 % (152). Les printemps frais et humides favoriseraient donc la germination des sclérotés. Au contraire, les temps secs et l'obscurité seraient défavorables à la croissance des *Claviceps spp* (154).

d. Toxicocinétique

Les différents modes d'intoxication sont l'exposition respiratoire, l'ingestion et l'exposition cutanée, bien que pour cette dernière aucun cas chez l'Homme n'a été rapporté. L'ingestion de denrées infestées par l'ergot représente donc le principal mode d'intoxication.

L'absorption se fait au travers de l'épithélium gastro-intestinal par diffusion passive, ou par transport actif impliquant des molécules d'ATP.

C'est la solubilité et le degré d'ionisation de l'alcaloïde qui déterminent son absorption. Tous ces alcaloïdes possèdent à la fois un groupement polaire et un groupement non polaire. C'est donc le pH du milieu qui va influencer leur répartition entre la phase aqueuse et la phase lipidique, et par conséquent leur absorption par l'organisme. L'absorption au niveau du duodénum et du jéjunum semble prédominer par rapport à celles de la muqueuse buccale et de l'estomac. Le taux d'absorption de l'Ergotamine chez l'Homme avoisinerait les 60 %, avec un pic plasmatique atteint deux heures après l'ingestion (155). L'absorption par voie rectale des médicaments dérivés des alcaloïdes de l'ergot est vingt fois supérieure à la voie orale (156).

Après absorption, les alcaloïdes rejoignent la circulation sanguine via le système lymphatique. Ils sont ensuite **distribués** dans quasiment tous les organes du corps humain. Certains composés ont une affinité pour un organe plus prononcée que d'autres ; ainsi, l'acide lysergique et ses dérivés sont d'abord distribués dans les poumons et le foie (154). Les demi-vies plasmatiques varient entre 1,4 à 6,2 heures (156).

Le métabolisme complet des alcaloïdes n'est pas encore élucidé. Il semblerait tout de même que les alcaloïdes disparaissent rapidement du sang et des tissus pour subir un effet de premier passage hépatique. Ce phénomène s'effectue par le biais des cytochromes de la sous-famille CYP3A (appartenant au complexe du CYP450) qui hydroxylent et désalkylent les alcaloïdes (157).

L'élimination se fait par voie urinaire, fécale, biliaire et, dans une moindre mesure, dans le lait. Elle dépend des caractéristiques structurales de la molécule. En effet, les alcaloïdes ayant une masse molaire inférieure à 350 g/mol sont éliminés dans les urines, alors que ceux ayant une masse molaire comprise entre 350 et 450 g/mol sont éliminés à part égale dans les urines et dans la bile. Pour les plus imposantes, l'excrétion s'effectue dans la bile (154).

e. Toxicité

Les effets des alcaloïdes sont multiples : effets cardiovasculaires, action sur les systèmes nerveux, immunitaire et reproducteur, contractions des fibres musculaires lisses... La multiplicité des effets toxiques s'explique par l'existence de nombreux alcaloïdes différents. Deux formes d'intoxication aux alcaloïdes ont été constatées : la forme convulsive et la forme gangréneuse (70).

La forme convulsive fait suite à une intoxication aiguë aux alcaloïdes de l'ergot. Elle est caractérisée par une neurotoxicité impliquant une agitation générale, des tremblements, des hallucinations, des convulsions, une paralysie et une faiblesse musculaire (154). Elle se conclue le plus souvent par la mort.

La forme gangréneuse apparaît quant à elle après l'ingestion répétée de petites doses de divers alcaloïdes. Elle se manifeste par une nécrose des membres, qui est d'abord périphérique avant de se généraliser aux viscères (infarctus du myocarde, insuffisance rénale...).

A des doses contrôlées, les alcaloïdes de l'ergot et leurs dérivés sont abondamment utilisés en médecine pour le traitement de la migraine (Dihydroergotamine-Diergo® Spray), le traitement de la maladie de Parkinson (Bromocriptine-Parlodel®), l'accélération des contractions utérines, l'inhibition de la lactation...

f. Mécanisme d'action

i. Généralités

Le mécanisme d'action (158) des alcaloïdes de l'ergot et de leurs dérivés repose sur l'analogie qui existe entre leurs structures et celles d'hormones et neurotransmetteurs endogènes : la dopamine, la noradrénaline, l'adrénaline et la sérotonine (figure 36). Suivant leur conformation spatiale, les alcaloïdes de l'ergot auront soit une activité agoniste soit une activité antagoniste.



Figure 36 : Structures de la dopamine, de l'adrénaline et de la sérotonine (6)

Ce sont tous les quatre des dérivés d'acides aminés aromatiques :

- **La sérotonine, ou 5-hydroxytryptophane (5-HT)**, est une monoamine de la famille des tryptamines qui sont constituées d'un noyau indolique et d'un groupement éthylamine. Elle participe au mécanisme de la douleur, au cycle veille-sommeil, au contrôle moteur...
- **La noradrénaline** (norépinephrine), **l'adrénaline** (épinéphrine) et la **dopamine** appartiennent à la famille des catécholamines. Elles dérivent de la tyrosine, un acide aminé cyclique. Elles jouent un rôle dans l'augmentation de la fréquence cardiaque, de la pression artérielle, de la glycémie, de la dilatation bronchique, dans la mémorisation, la cognition, la vigilance...

La structure des alcaloïdes de l'ergot leur permet donc d'interagir avec les récepteurs de ces quatre neurotransmetteurs : les récepteurs dopaminergiques (D_1 à D_5), les récepteurs sérotoninergiques (récepteur 5-HT₁ et 5-HT₇) et les récepteurs α et β -adrénergiques. A fortes doses, les alcaloïdes se comportent comme des antagonistes adrénérgiques, dopaminergiques et sérotoninergiques.

ii. Effets α et β -adrénergiques

Certains alcaloïdes de l'ergot se comportent comme des agonistes partiels des récepteurs adrénérgiques. Ils se lient et activent ces récepteurs, mais leur effet est moindre que celui des catécholamines endogènes.

Les récepteurs α -adrénergiques (α_1 et α_2) sont localisés majoritairement au niveau des cellules musculaires lisses de l'iris, du système cardiovasculaire, du tractus gastro-intestinal et du foie. La stimulation de ces récepteurs entraîne une contraction des cellules et se traduit par une vasoconstriction, une mydriase et une contraction des sphincters de la vessie. Par ailleurs, on remarque aussi une stimulation de la glycogénolyse hépatique et une diminution de la sécrétion d'insuline qui se manifeste par une augmentation de la glycémie.

Les récepteurs β -adrénergiques (β_1 à β_3) se retrouvent au niveau cardiaque, pulmonaire, utérin, vasculaire et rénal. Leur stimulation implique une augmentation de la force de contraction et du rythme cardiaque. L'Ergovaline et l'Ergométrine sont les alcaloïdes ayant le plus fort pouvoir vasoconstricteur (154). Les alcaloïdes jouent aussi un rôle dans la glycogénolyse, la lipolyse et la relaxation des cellules musculaires lisses. Certaines molécules ont une affinité particulière pour les récepteurs utérins, stimulant ainsi le tonus, la fréquence et l'amplitude des contractions utérines (159).

La stimulation excessive des récepteurs adrénérergiques peut entraîner une ischémie cardiaque, une hypertension artérielle et une gangrène des membres dans les cas extrêmes.

iii. Effets dopaminergiques

La dopamine est un neurotransmetteur et une hormone essentielle. Elle est impliquée dans le processus de la mémoire, du plaisir, de l'apprentissage et de la motricité. Les récepteurs dopaminergiques (D_1 à D_5) sont omniprésents dans le système nerveux central. Au niveau hypothalamique, la stimulation des récepteurs dopaminergiques provoque une inhibition de la sécrétion de prolactine, l'hormone de la lactation. Les alcaloïdes vont donc induire une diminution de la lactation (toxicité chronique), voire une agalactie (154). L'Ergométrine et l'Ergocryptine ont cette capacité. Les dérivés des alcaloïdes de l'ergot sont également utilisés en thérapeutique dans la maladie de Parkinson : dans cette indication, ils miment l'action de la dopamine qui est anormalement déficitaire.

iv. Effets sérotoninergiques

Les récepteurs sérotoninergiques (5-HT_1 à 5-HT_7) sont distribués de manière inégale au niveau du cerveau et du système nerveux périphérique. Ils sont impliqués, entre autres, dans le péristaltisme intestinal, la bronchoconstriction, la vasoconstriction, la contraction utérine, dans les phénomènes inflammatoires et allergiques, ainsi que dans le processus émétique. L'effet antimigraineux est basé sur la vasoconstriction exercée par les alcaloïdes sur les récepteurs sérotoninergiques cérébraux.

v. Autres effets

Certains alcaloïdes auraient une activité inhibitrice vis-à-vis des canaux chlorures des récepteurs à l'acide γ -aminobutyrique (GABA), un neurotransmetteur inhibiteur. Ce système a pour fonction d'empêcher l'excitation prolongée des neurones. Son inhibition modifierait donc le potentiel membranaire des cellules neuronales, les rendant plus facilement excitables, ce qui pourrait expliquer la survenue de convulsions et d'hallucinations dans la forme convulsive de l'ergotisme (70).

À ce jour, aucune donnée ne permet d'attester que les alcaloïdes de l'ergot possèdent une quelconque activité mutagène ou oncogène.

6. Trichothécènes

Le groupe des Trichothécènes (TCT) est composé de plus de 160 molécules. L'intérêt des TCT a augmenté après la Seconde Guerre Mondiale : en effet, leur utilisation dans des armes chimiques en Iran et en Afghanistan a été suspectée (70). Les TCT font partie des Fusariotoxines, mycotoxines produites essentiellement par le genre *Fusarium*. Les TCT les plus répandus sont le Déoxynivalénol (DON), ou Vomitoxine, le Nivalénol (NIV), le Diacétoxyscirpénol (DAS), la Toxine T-2 et la Toxine HT-2.

a. Structure

Les TCT sont composés exclusivement d'atomes de carbone, hydrogène et oxygène (78). Les TCT appartiennent à la famille des sesquiterpénoïdes. Ces composés sont constitués de trois cycles accolés : un cyclopentane, un oxacyclohexane et un cyclohexane (figure 37). Ce squelette est nommé « Trichothécane » (160).

À ce squelette, s'additionnent des groupements méthyles, un groupe époxyde en position C₁₂-C₁₃ et une double liaison en position C₉-C₁₀ (78, 160). Les TCT diffèrent entre eux par la position des groupements hydroxyles et par la présence d'esters rattachés aux cycles.

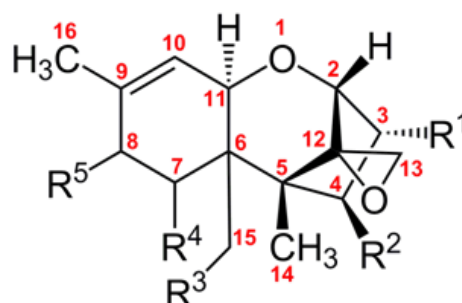


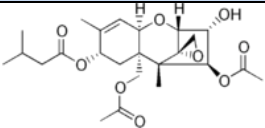
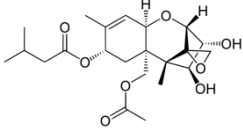
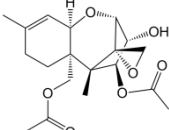
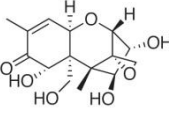
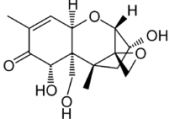
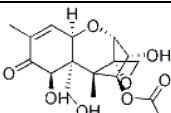
Figure 37 : Structure chimique générale des Trichothécènes (6)

Les TCT sont réparties en quatre groupes (161):

- **Le groupe A** est constitué des TCT ne présentant pas de fonction cétone en position C₈ (figure 38). Les principaux représentants sont la Toxine T-2, la Toxine HT-2 et le DAS. La Toxine T-2 est considérée comme étant la plus toxique des TCT.
- **Le groupe B** est constitué des TCT ayant une fonction cétone en position C₈ (figure 38). Les plus courants sont le DON, le NIV et la Fusarénone-X (F-X).
- **Le groupe C** est constitué des TCT ayant un second époxyde en position C₇, comme la Crotocine.
- **Le groupe D** est constitué des TCT présentant dans leur structure un macrocycle supplémentaire en position C₄-C₁₅. Les plus abondantes sont les Verrucarines, les Roridines et les Satratoxines.

Les toxines des groupes A et B (figure 38) sont les plus communes dans les denrées alimentaires. L'exposition aux groupes C et D est plus fréquente par voie cutanée et respiratoire (70). Seules les toxines des groupes A et B seront abordées ici.

Figure 38 : Structures chimiques de quelques TCT (6)

Dénomination	Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Structure chimique
GROUPE A			
Toxine T-2	C ₂₄ H ₃₄ O ₉	466,5	
Toxine HT-2	C ₂₂ H ₃₂ O ₈	424,5	
Diacétoxyscirpénol	C ₁₉ H ₂₆ O ₇	366,4	
GROUPE B			
Nivaléol	C ₁₅ H ₂₀ O ₇	312,3	
Déoxynivaléol	C ₁₅ H ₂₀ O ₆	296,3	
Fusarénone X	C ₁₇ H ₂₂ O ₈	354,4	

b. Propriétés physico-chimiques

Le TCT se présentent généralement sous la forme de poudres incolores et cristallisables dans certaines conditions (160, 162). Les masses molaires varient de 154 à 697 g/mol. Les formes lévogyres et dextrogyres sont optiquement actives. Ces toxines n'absorbent ni les UV ni les radiations visibles, à l'exception des TCT macrocycliques du groupe D qui présentent des doubles liaisons conjuguées (162).

Les TCT sont des composés neutres d'un point de vue acido-basique. Ils sont le plus souvent solubles dans les solvants moyennement polaires (alcools, solvants chlorés). La Toxine T-2 présente une bonne solubilité dans les solvants organiques polaires, comme l'acétone ou l'acétonitrite. Le DON est quant à lui soluble dans les alcools et l'eau. Dans certaines conditions, les TCT sont légèrement solubles dans l'eau. Les composés estérifiés sont d'ailleurs moins solubles dans l'eau que les composés hydroxylés (160, 162). Les TCT du groupe D sont des molécules neutres, liposolubles et très peu hydrosolubles.

Leur stabilité aux hautes températures est remarquable. La cuisson des aliments ne suffit donc pas à les détruire (161). La DON est stable à 120°C, modérément stable à 180°C, et ne se décompose qu'à 210°C après 20 à 40 minutes. De manière générale, pour être inactivés, les TCT doivent être soumis à une température de 900°C pendant 10 minutes, ou de 500°C pendant 30 minutes.

D'autre part, les TCT résistent très bien aux solutions basiques concentrées. La destruction du DON et du NIV nécessite un pH égal à 12 et une température minimale de 80°C.

La toxicité des TCT est due principalement à la présence d'un groupement époxyde très réactif, et à la présence d'une double liaison C₉-C₁₀ qui permet des réactions d'addition et de substitution. La réduction de l'époxyde par l'hydrure d'aluminium et de lithium, ou son attaque par un acide fort, conduit à l'ouverture de cet époxyde, rendant ainsi le composé formé totalement inactif (161).

c. Moisissures productrices - Toxinogène

Les Trichothécènes sont majoritairement produits par des champignons appartenant aux genres *Fusarium*, *Trichoderma*, *Stachybotrys*, *Cephalosporum* et *Trichothecium* (figure 39). Les *Fusaria* restent les mycètes les plus prolifiques (70).

Toxines	Principaux champignons producteurs
Toxine T-2	<i>F. tricinctum</i> , <i>F. sporotrichioides</i>
Toxine HT-2	<i>F. tricinctum</i> , <i>F. poae</i> <i>F. solani</i> , <i>F. equiseti</i>
DAS	<i>F. graminearum</i> , <i>F. roseum</i>
DON	<i>F. roseum</i> , <i>F. graminearum</i>
NIV	<i>F. nivale</i>
Fusarénone-X	<i>F. crookwellense</i> , <i>F. solani</i>
Groupe C	<i>Trichoderma spp</i> , <i>Trichothecium spp</i>
Groupe D	<i>Myrothexium spp</i> , <i>Stachybotrys spp</i>

Figure 39 : Principaux champignons producteurs de TCT (70)

Des régions humides et froides du Nord de l'Amérique aux régions tempérées de l'Europe, les Trichothécènes sont présents dans le monde entier. Les *Fusaria* affectent surtout les cultures céréalières (blé, orge, avoine, maïs, riz, millet) mais aussi les fruits (bananes, fruits à noyaux). Les mycètes du genre *Fusarium* sont endophytes et ne se développent que sur les végétaux vivants. La contamination peut survenir en cours de culture (*F. graminearum*, *F. nivale*), lors de la récolte (*F. tricinctum*) ou lors du stockage (*Trichoderma*), dans des conditions d'humidité importante (70).

La grande diversité des Trichothécènes et de leurs moisissures productrices fait que les conditions de toxinogène et de croissance fongique sont complexes et partiellement identifiées. Ces conditions dépendent des espèces concernées. Par exemple, *Fusarium tricinctum*, produisant entre autres la Toxine T-2, se développe pour des températures allant de -2°C à 35°C, et pour un A_w supérieur à 0,88, tandis que *Fusarium roseum* préfère les températures supérieures à 20°C. Toutefois, il semblerait que pour la plupart des *Fusaria*, les épisodes de refroidissement et de pluies permettent d'accélérer le développement fongique et la production de toxines.

d. Toxicocinétique

i. Groupe A

La voie principale d'intoxication par les TCT est la voie orale. Toutefois, la voie respiratoire est une voie d'exposition possible lors de l'intoxication à la Toxine T-2. De plus, leur propriété lipophile suggère une bonne absorption à travers la peau. Chez l'animal, **l'absorption** de TCT du groupe A est très rapide après ingestion. Les concentrations plasmatiques maximales apparaissent trente minutes après l'ingestion (70).

Les TCT sont **distribués** dans tout l'organisme du rongeur, sans s'accumuler de façon spécifique dans les organes.

Il n'existe aucune donnée chez l'Homme concernant le **métabolisme** des TCT du groupe A. Chez les rongeurs, le métabolisme est principalement hépatique (164). La Toxine T-2 est métabolisée par dé-acétylation, hydroxylation, glucuronogonjugaison et dé-époxydation (70). La principale voie de métabolisation est la dé-acétylation, aboutissant à la formation de Toxine HT-2. Cette réaction s'effectue sous l'influence d'une carboxyestérase qui peut être sérique, tissulaire ou hépatique (70). La Toxine HT-2 est ensuite soit hydroxylée soit conjuguée à l'acide glucuronique. La Toxine T-2 est rapidement assimilée et métabolisée sans accumulation particulière dans les organes.

L'élimination est principalement biliaire, sous forme conjuguée (164), mais peut aussi avoir lieu dans les urines et dans le lait (164).

ii. Groupe B

Les TCT du groupe B, notamment le DON, présentent chez le rat une biodisponibilité importante. En effet, un tiers de la dose administrée par voie orale est retrouvé dans les urines 24 heures après l'ingestion (165).

La distribution s'effectue de manière équivalente dans les reins, le foie et le plasma.

Comme pour le groupe A, **le métabolisme** du groupe B met en jeu des réactions de conjugaison, de dé-époxydation et de désésterification. La dé-époxydation hépatique permet de détoxifier presque totalement le DON. Effectivement, le groupe époxyde est le groupement principalement responsable de la toxicité des TCT. Le DON est aussi dé-époxydé par la flore intestinale. La dé-époxydation du DON permet la formation de Dé-époxy-déoxynivalénol-1 (DOM-1).

Les métabolites sont ensuite **éliminés** dans la bile, les fèces et l'urine (70). Une contamination du lait a aussi été rapportée (70).

e. Toxicité

i. Groupe A

Les toxines du groupe A sont les composés les plus toxiques des TCT. Concernant le groupe A, les études de toxicité aiguë ont été réalisées à partir de la Toxine T-2. Chez les animaux, la toxicité aiguë apparaît pour des doses de Toxine T-2 comprises entre 0,06 et 0,01 mg/kg. L'intoxication aiguë à la Toxine T-2 se manifeste par des symptômes peu spécifiques : perte de poids, vomissements, diarrhées, hémorragies, dermatites, nécrose des épithéliums, anorexie, réduction du nombre de leucocytes (70)... La nécrose des tissus lymphoïdes provoquée par la Toxine T-2 a un impact sur la réponse immunitaire, qu'elle soit humorale, inflammatoire ou cellulaire.

L'exposition chronique à la Toxine T-2 chez l'animal met en évidence des lésions de l'épithélium de l'œsophage, une diminution du poids, des modifications hématologiques et immunitaires. Quel que soit le mode d'administration, le tissu cible de la toxicité de la Toxine T-2, après une exposition aiguë ou chronique, est le tissu hématopoïétique (166). Les TCT du groupe A ont un effet hématotoxique important. Ils affectent la moelle osseuse hématopoïétique, les cellules sanguines, et agissent sur la coagulation et l'hémostase. Les principaux dégâts observés sont une inhibition de l'érythropoïèse (production de globules rouges) dans la rate et la moelle osseuse de la souris (167), une leucopénie (baisse des globules blancs), ainsi qu'une diminution du nombre de plaquettes (thrombopénie).

Le deuxième effet important du groupe A est l'impact immunitaire associé à une myélotoxicité. Les propriétés immunotoxiques du groupe A se manifestent surtout par l'impact sur les différentes lignées cellulaires immunitaires. Ils induisent une baisse de l'activité des cellules immunitaires : diminution du nombre de lymphocytes T CD4⁺, CD8⁺ et B (168), de monocytes, de macrophages et de granulocytes (70). Ils altèrent aussi la production d'interleukines et d'immunoglobulines, ainsi que la maturation des cellules dendritiques humaines, qui sont alors incapables de présenter l'antigène aux lymphocytes. La résistance aux infections opportunistes serait donc altérée à la suite d'une exposition aux Trichothécènes, même à des niveaux très faibles de contamination.

Les études sur la génotoxicité et la cancérogénicité des TCT du groupe A ne sont pas probantes, bien que la Toxine T-2 provoque chez la souris des cassures simple-brin d'ADN au niveau de la rate et du thymus (169).

ii. Groupe B

Les effets observés lors d'une intoxication aiguë aux toxines du groupe B sont semblables à ceux du groupe A, mais moins marqués (70). Ainsi une exposition aiguë au DON entraîne des vomissements importants, un refus de s'alimenter, une altération de l'état général et une perte de poids. De plus, des nécroses du tissu gastro-intestinal, de la moelle osseuse et des tissus lymphoïdes ont été mises en évidence chez l'animal (70).

Les études de toxicité chronique mettent également en évidence une diminution du poids, une réduction de la prise alimentaire et une modification des paramètres hématologiques. Selon la durée d'exposition, les TCT du groupe B occasionnent soit une immunostimulation à faibles doses soit une immunodépression à fortes doses (170). Effectivement, le DON a révélé des propriétés stimulantes sur la production de cytokines pro-inflammatoires, en particulier l'IL-1 et l'IL-6. Par ailleurs, à haute dose, le DON influe sur la prolifération des lymphocytes. De manière générale, les TCT du groupe B exercent la même toxicité sanguine et immune que celle du groupe A. Comme pour les TCT des autres groupes, la toxicité cutanée et les lésions digestives sont fréquentes lors d'intoxications aiguës ou chroniques.

Enfin, comme pour le groupe A, les propriétés cancérigènes, tératogènes et génotoxiques n'ont pas été démontrées pour le groupe B. Le DON étant considéré comme agent inclassable quant à sa cancérigénicité pour l'Homme (groupe 3 du CIRC).

f. Mécanisme d'action

i. Synthèse protéique

Les Trichothécènes agissent comme des inhibiteurs de la synthèse protéique des cellules eucaryotes. Ils inhibent la traduction de l'ARN messager en protéine soit au moment de l'initiation du processus soit lors de l'élongation protéique (figure 40).

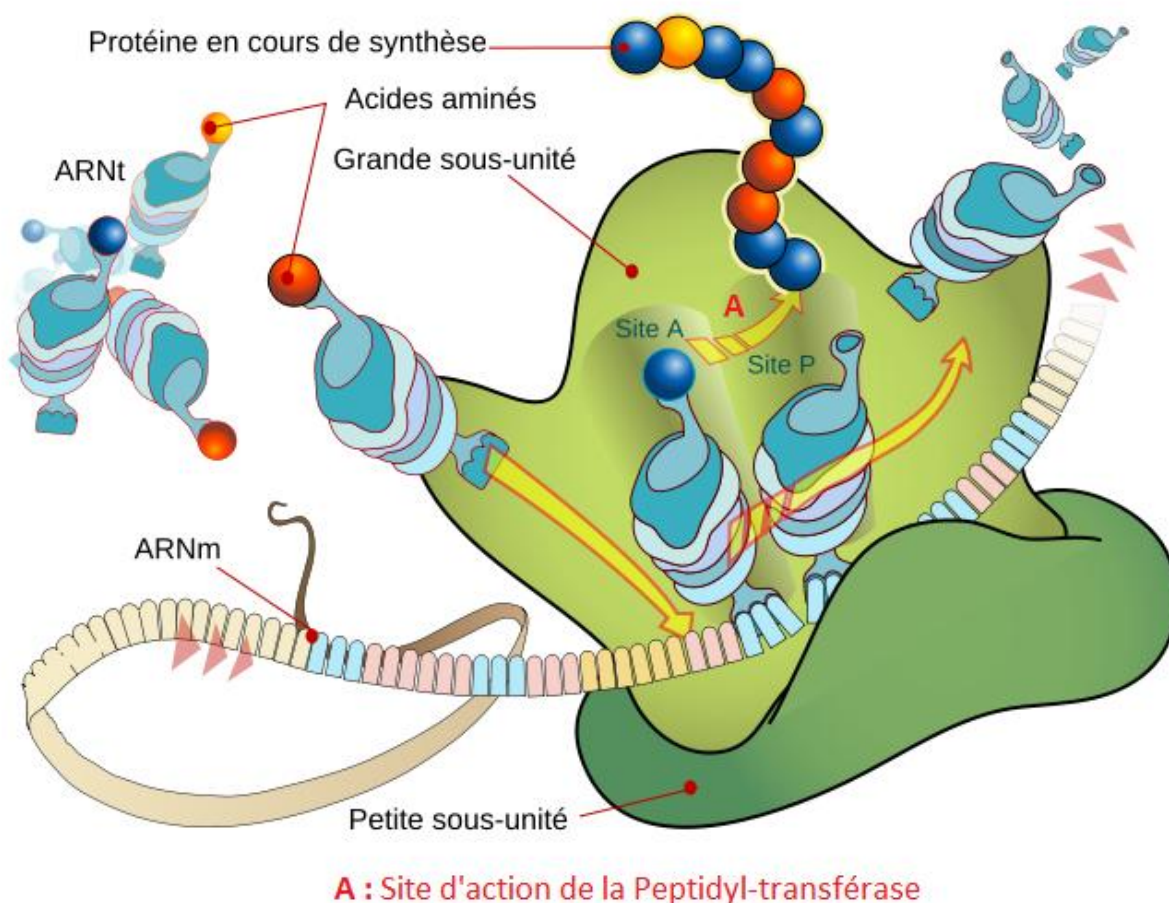


Figure 40 : Schéma de l'élongation protéique (171)

Les TCT agissent en se liant à la grande sous-unité 60 S du ribosome, interférant ainsi avec l'action de la peptidyl-transférase (172), enzyme qui catalyse l'élongation de la chaîne protéique. Ce mode d'action repose sur la présence de la double liaison en C₉-C₁₀ et du groupement époxyde intact.

Les TCT n'agissent pas tous au même niveau. Par exemple, le DON ne peut inhiber que l'élongation tandis que la F-X peut à la fois inhiber l'élongation et l'initiation. Il convient de noter que l'effet et la durée de l'action de la toxine sont dose-dépendants. L'inhibition de la traduction dépend également de l'encombrement stérique du Trichothécène impliqué. Par ailleurs, plus la toxine est lipophile, meilleure sera sa pénétration intracellulaire et donc son action au niveau des ribosomes. Cette action sur la synthèse protéique aurait des conséquences directes sur la synthèse des acides nucléiques, et notamment celle de l'ADN.

ii. Synthèse lipidique

Le mécanisme toxique des TCT repose aussi sur leur action au niveau des lipides des membranes cellulaires. Ils provoquent une modification des interactions des protéines et des lipides constitutifs de la paroi cellulaire. Selon certaines études, ils s'intercaleraient dans la bicouche phospholipidique, ce qui engendrerait une perte de fluidité membranaire voire une lyse de la membrane. Cette perte d'intégrité affecterait aussi les propriétés des enzymes, des canaux ioniques et des transporteurs membranaires (70).

iii. Apoptose cellulaire

Le mécanisme cytotoxique d'induction de l'apoptose, ou mort programmée d'une cellule, par les TCT n'est pas élucidé. Cependant, il semblerait que ce mécanisme découle de l'inhibition protéique et de l'inhibition de l'expression du gène Bcl-2 (*B-cell lymphoma 2*), gène inhibiteur de l'apoptose (70).

7. Patuline

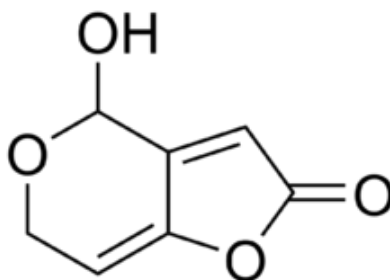
La Patuline a été identifiée pour la première fois en 1943 dans des cultures d'*Aspergillus clavatus* (173), puis isolée pour la première fois à partir de colonies de *Penicillium griseofulvum* (aussi nommé *Penicillium patalum*) et de *Penicillium expansum* (174). Elle reçut pour cette raison plusieurs dénominations : Clavacine, Claviformine, Clavatine, Expansine, Pénicidine...

Ses propriétés antibiotiques envers les bactéries à Gram négatif et à Gram positif (175) ont conduit la Patuline à être utilisée initialement en médecine humaine et vétérinaire. Son utilisation est aujourd'hui suspendue en raison de sa neurotoxicité.

a. Structure

La Patuline est une lactone hétérocyclique insaturée, de masse molaire égale à 154,1 g/mol. Sa dénomination complète est la suivante (4) : 4,6-dihydro-4-hydroxy-2H-furo[3,2-c]pyrane-2-one (figure 41) et sa formule brute est C₇H₆O₄.

Figure 41 : Structure chimique de la Patuline (6)



Sa biosynthèse découle de la condensation d'une molécule d'Acétyl-coenzyme A, acteur majeur du cycle de Krebs, et de trois molécules de Malonyl-coenzyme A.

b. Propriétés physico-chimiques

La Patuline se présente sous la forme de cristaux incolores et possède un point de fusion de 111°C (176). Elle est insoluble dans les solvants organiques apolaires comme le benzène ou les éthers de pétrole (mélanges d'alcane). Sa solubilité est par contre excellente dans l'eau et les solvants organiques polaires tels que les alcools (éthanol, méthanol), l'acétone, les éthers, le chloroforme, l'acétate d'éthyle...

La Patuline est stable en milieu acide mais perd son activité biologique en milieu alcalin (177). En outre, elle est très résistante aux températures élevées et les traitements thermiques ne suffisent donc pas à la dénaturer.

c. Moisissures productrices - Toxinogène

La Patuline est issue du métabolisme secondaire de plusieurs champignons appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces* et *Byssochlamys*, forme téléomorphe de *Paecilomyces spp.*

On recense une quarantaine d'espèces productrices de Patuline, dont quatorze appartenant au seul genre *Penicillium*. *Penicillium griseofulvum*, *P. urticae*, *P. expansum*, *P. glandicola*, *P. vulpinum* (aussi nommée *P. claviforme*), *P. paneum* et *P. carneum* sont les principaux *Penicillia* responsables de la sécrétion de Patuline. Chez les *Aspergilli*, *Aspergillus clavatus*, *A. giganteus* et *A. terreus* sont aussi producteurs de Patuline. Chez le genre *Byssochlamys*, ce sont *Byssochlamys nivea* et *B. fulva* qui sont responsables de la production de Patuline dans le maïs (70).

La présence de « pourriture bleue », provoquée par *Penicillium expansum* sur les fruits, ne traduit pas obligatoirement la présence de Patuline. Elle a tout de même été détectée dans de nombreux fruits, et notamment ceux de la sous-famille des *Maloideae* (pomme, poire, coing...). On la retrouve aussi dans les produits transformés de ces fruits (jus de pomme, cidre...) et dans beaucoup d'autres fruits comme les abricots, les bananes ou encore les pêches (178). Les produits céréaliers sont eux aussi touchés par la production de Patuline.

La toxigenèse de la Patuline, sur des substrats riches en glucides (fruits), est favorisée par des températures comprises entre 20 et 25°C. L'intervalle de températures idéales de production de Patuline est plutôt mince en comparaison de celui nécessaire à la croissance fongique, qui lui est compris entre 0 et 30°C (179). Par ailleurs, la croissance de *Penicillium expansum* est largement favorisée par les blessures, chocs ou piqûres d'insectes, subies par le fruit. Les mauvaises conditions de stockage et de conservation des grains sont aussi des facteurs favorisant le développement du champignon et la production de Patuline.

d. Toxicocinétique

Une étude *in situ* chez le rat a permis de mettre en évidence que 26 à 29 % de la Patuline étaient **absorbés** en 55 minutes, après administration par voie orale. De cette part absorbée, 2 à 17 % étaient transférés vers la circulation sanguine, alors que seulement 0,06 à 3 % demeuraient dans le tissu gastrique. La disparition de la majeure partie de Patuline est due à une réaction avec le glutathion intracellulaire, dont la diminution est importante lors de l'exposition à de fortes doses de Patuline (180).

La Patuline est ensuite **distribuée** dans l'ensemble de l'organisme avec une nette préférence pour le système nerveux central et le tractus gastro-intestinal.

La Patuline est dégradée au niveau hépatique par les cytochromes P450. Le **métabolisme** aboutit à la formation de composés non cytotoxiques (70).

Elle est finalement **éliminée** par voie fécale, ou urinaire, dans les 24 heures suivant l'ingestion. Des études ont permis de mettre en évidence, que chez les rats traités *per os* par une dose de Patuline marquée au ¹⁴C, une petite proportion de cette Patuline ingérée était éliminée sous forme de gaz carbonique ou retenue dans le sang et les tissus mous (181).

e. Toxicité

La toxicité aiguë a surtout été étudiée chez le rat. C'est surtout par sa neurotoxicité que l'intoxication aiguë à la Patuline se distingue. Les signes d'une atteinte nerveuse sont peu spécifiques : convulsions, agitation, tremblements, paraplégie, hyperesthésie (70, 76). Une perturbation des sécrétions des hormones thyroïdiennes et stéroïdiennes a aussi été rapportée.

Concernant la toxicité chronique, les études chez les animaux ont permis de mettre en évidence une perte pondérale, des œdèmes pulmonaires associés à une dyspnée, des perturbations rénales et gastro-intestinales.

En plus de ses propriétés neurotoxiques, la Patuline est aussi cancérigène, mutagène, immunotoxique et cytotoxique (76). Ces propriétés sont attribuées au caractère clastogène de la Patuline, c'est-à-dire à sa capacité à provoquer des ruptures dans les brins d'ADN. En revanche, sa cancérigénicité n'est pas établie, elle a été classée dans le groupe 3 du CIRC (70).

f. Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action pourrait reposer sur l'affinité de la Patuline envers les protéines et les enzymes (notamment intestinales et cérébrales). La forte affinité de la Patuline pour les groupements thiols ou sulfhydriles (-SH), présents dans les protéines, serait à l'origine de son mécanisme d'action. La Patuline forme généralement des adduits avec les acides aminés soufrés, en particulier la cystéine. Elle inhiberait ainsi le bon fonctionnement de diverses enzymes dont les plus importantes sont les suivantes :

- **Les ARN-polymérase et les ADN-polymérase** sont responsables respectivement de la synthèse de l'ARN et de l'ADN. Leur altération peut avoir des conséquences sur la transcription et la traduction (182).
- **Les pompes ATP-ase Na⁺/K⁺-dépendantes** permettent, en échange d'énergie (ATP), le transport membranaire d'ions potassium et sodium contre leur gradient de concentration. Elles jouent un rôle dans la préservation du potentiel de repos des cellules nerveuses, cardiaques et musculaires (183).

C. Quelques autres mycotoxines

1. Citrinine

C'est une petite molécule de faible masse molaire (250 g/mol), constituée d'un benzopyrane phénolique (figure 42).

Elle a été découverte la première fois sur du « riz jaune » contaminé par *Penicillium citrinum*. C'est une mycotoxine produite principalement par des moisissures appartenant aux genres *Penicillium*, *Aspergillus* et *Monascus*, et dont les principales espèces productrices sont : *Aspergillus terreus*, *A. carneus*, *Penicillium citrinum*, *P. verrucosum* et *P. camemberti*.

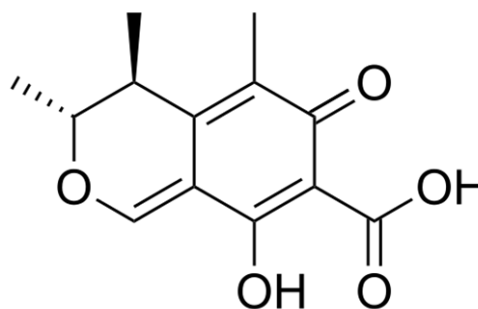


Figure 42 : Structure chimique de la Citrinine (6)

La Citrinine est un contaminant naturel des fruits (pommes, abricots) et céréales (riz, maïs, arachide) cultivés dans les régions tempérées du Globe (70), ainsi que des salaisons.

Outre ses propriétés immunotoxiques, hépatotoxiques, tératogènes et embryotoxiques, la Citrinine est surtout reconnue pour son intense toxicité rénale. Souvent produite simultanément avec l'OTA, elle est aussi suspectée d'être impliquée dans la Néphropathie Endémique des Balkans (70). De plus, la Citrinine, dont les effets néfastes sont exacerbés en présence d'OTA, serait à l'origine de l'augmentation de l'incidence de tumeurs rénales (76).

De par ses activités d'inhibition de la synthèse des acides nucléiques et d'initiation de la formation de DRO, la Citrinine possède aussi des propriétés antibiotiques.

2. Acide cyclopiazonique

L'acide cyclopiazonique, ou CPA, est un métabolite secondaire des genres *Aspergillus* et *Penicillium*. Les espèces les plus couramment incriminées dans la production de CPA sont *Aspergillus flavus*, *A. tamarii*, *Penicillium camemberti* et *P. cyclopium*. Il est souvent produit parallèlement aux Aflatoxines, dont les souches productrices sont les mêmes que celles du CPA.

Il a été identifié dans de nombreuses denrées alimentaires (légumes, céréales, viandes, fromages, lait...), mais peu de cas de mycotoxicoses lui sont imputés en raison de sa faible toxicité et de sa présence conjointe fréquente avec les Aflatoxines (70), et spécialement dans les arachides contaminées par *Aspergillus flavus* (184).

Le CPA, dont le précurseur est le tryptophane (185), est issu de la voie de synthèse des acides aminés. Son mécanisme d'action repose sur l'inhibition réversible de la pompe Ca^{2+} /ATP-ase, enzyme impliquée dans le cycle relaxation/contraction des cellules musculaires (70). En découlent ses propriétés neurotoxiques, caractérisées par des tremblements, des convulsions et de l'hypokinésie (186). À ces effets, s'ajoutent des signes rénaux et gastro-intestinaux (anorexie, vomissements, perte de poids, diarrhées...).

3. Mycotoxines trémorgènes

Les toxines trémorgènes forment un vaste groupe comprenant une vingtaine de composés dont les principaux sont l'Aflatrème, les Fumitrémorgènes A, B, la Paxilline, les Pénitrèmes A, E, la Roquefortine et la Tryptoquivalline.

Les toxines trémorgènes sont conçues par des *Penicillia* (*P. cyclopium*, *P. verruculosum*) et des *Aspergilli* (*A. terreus*, *A. fumigatus*, *A. clavatus*). Elles posent un problème préoccupant en santé humaine et animale (animaux de compagnie et d'élevage) car elles sont fréquemment identifiées dans le maïs, les fourrages et ensilages (187), ainsi que dans les viandes fermentées et les fromages. On peut citer l'exemple de la Roquefortine qui est retrouvée dans certains fromages bleus, en raison de l'utilisation de *Penicillium roqueforti* dans la maturation de ces fromages.

Ces toxines sont qualifiées de trémorgènes compte tenu de leur neurotoxicité qui se manifeste par des tremblements et des crises épileptoïdes pouvant conduire à la mort. Ces symptômes neurologiques pourraient être dus à la capacité des toxines trémorgènes à stimuler la libération de neurotransmetteurs excitateurs (aspartate et glutamate), et à inhiber la sécrétion des neurotransmetteurs inhibiteurs comme l'acide γ -aminobutyrique (188).

4. Stérigmatocystine

La Stérigmatocystine (figure 43) est une toxine apparentée aux Aflatoxines. C'est un métabolite tardif qui apparaît dans la voie de biosynthèse des Aflatoxines.

Tout comme les Aflatoxines, elle est produite par des espèces de moisissures appartenant au genre *Aspergillus*, en particulier *Aspergillus versicolor* et *A. nidulans* (76). Elle est d'ordinaire retrouvée dans les environnements intérieurs humides, mais est aussi présente dans certaines denrées alimentaires telles que le café, les céréales et le fromage (4).

La Stérigmatocystine est cytotoxique et possède, à l'image des Aflatoxines, des pouvoirs hépatotoxique, mutagène et cancérigène. Cependant, elle n'est classée que dans le groupe 2B du CIRC, comme agent possiblement cancérigène pour l'Homme (4, 76).

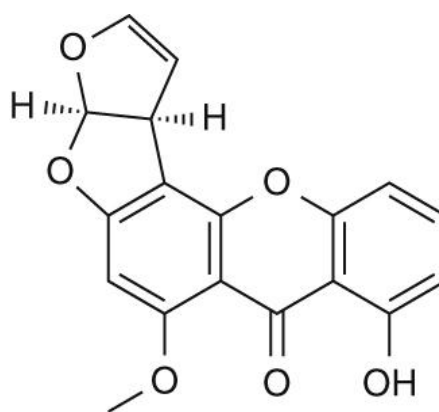


Figure 43 : Structure chimique de la Stérigmatocystine (189)

5. Sporidesmines

Les Sporidesmines forment un ensemble de molécules (nommées de A à J) sécrétées exclusivement par *Pithomyces chartarum* qui se développe au ras du sol sur des végétaux morts. Ce champignon infeste les herbes et fourrages destinés à l'alimentation des animaux d'élevage (ovins, caprins, bovins). C'est une moisissure peu courante qui ne provoque que des intoxications endémiques, regroupées sous le terme de sporidesmiotoxicoses (70). Ces maladies se développent dans régions géographiques limitées comme le Pays Basque, la Nouvelle-Zélande ou encore les Açores (70). Les Sporidesmines sont à l'origine, chez les animaux d'élevage, d'une maladie nommée « eczéma facial des ruminants ». Cette affection se caractérise par une atteinte cutanée due à photosensibilisation provoquée par de graves lésions hépatiques. Cette hépatotoxicité est attribuée à la capacité des Sporidesmines à permettre la génération d'anions superoxydes et de radicaux hydroxyles très réactifs (70). Les Sporidesmines sont considérées comme les mycotoxines étant les plus hépatotoxiques pour les animaux.

6. Phomopsines

Les Phomopsines (A, B et C) sont des métabolites produits par *Phomopsis leptostromiformis*, la forme anamorphe de l'Ascomycète *Diaporthe toxica* (70). Cette moisissure est un contaminant privilégié des plantes fourragères de la famille des lupins (4). Les Phomopsines sont impliquées dans les lupinoses développées par les animaux d'élevage. Les Phomopsines étant hépatotoxiques, la lupinose se manifeste par une cholangite oblitérante et une fibrose hépatique associée à une prolifération des canaux biliaires (4).

Les Phomopsines agissent par inhibition du transport intracellulaire des lipides, qui s'accumulent alors dans les hépatocytes (70). Ce sont des toxines très nocives pour les animaux. Par contre, elles ne présentent pas de réels dangers pour l'Homme, aucun cas n'ayant été rapporté en France à ce jour.

7. Toxines du genre *Alternaria*

Les moisissures du genre *Alternaria* ont une répartition mondiale. Elles sont capables de produire une trentaine de métabolites de structures chimiques variées (figure 44). *Alternaria solani* et *A. alternata* sont les espèces le plus souvent incriminées dans la production de ce type de mycotoxines.

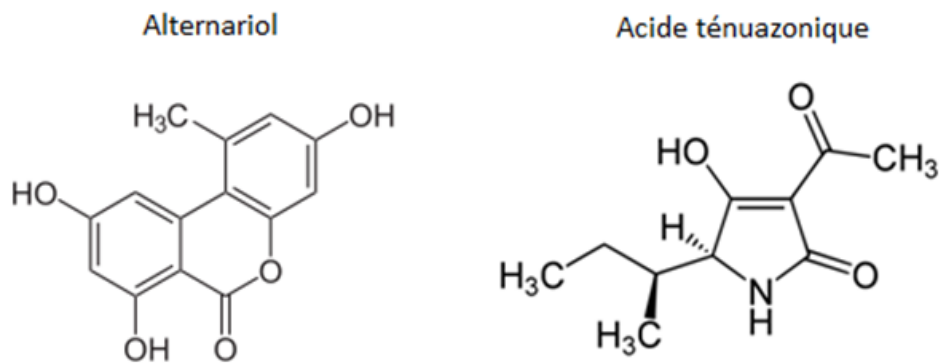


Figure 44 : Structures chimiques de quelques toxines d'*Alternaria spp* (6)

Le genre *Alternaria* est particulièrement connu pour être allergisant à cause de la dissémination aisée de ses spores (190), mais il présente aussi un impact sur la santé par l'ingestion de ses métabolites. Les mycotoxines sécrétées sont l'acide ténuazonique, l'Alternariol, l'Alténuène et les Altétoxinés 1, 2 et 3. Malgré leur faible concentration dans les aliments, on les retrouve tout de même dans de nombreuses denrées infestées par *Alternaria spp* (fruits et légumes). L'exposition humaine et animale reste néanmoins limitée (70).

Bien qu'ayant des propriétés antivirale, antifongique et antibactérienne, l'ingestion de ces toxines est susceptible d'occasionner des mutations génétiques (70).

8. Stachybotryotoxines

Elles sont synthétisées par *Stachybotrys chartarum*. Elles appartiennent à la famille des TCT macrocycliques (groupe D). Elles regroupent les Satratoxines, les Verrucarines, les Roridines et les Isosatratoxines. Le genre *Stachybotrys* se développe généralement sur des supports riches en cellulose tels que le foin, la paille et les ensilages. Mais on le retrouve aussi dans les céréales, la canne à sucre, les poacées... La contamination survient en principe dans les climats plutôt froids (Europe de l'Est) mais peut s'observer également dans les régions à climats doux voire chauds.

Ces toxines provoquent chez les chevaux, la stachybotryotoxicose qui se distingue par une nécrose cutanéomuqueuse de la face, suivie de graves signes systémiques, associés à une neutropénie et une thrombopénie (70). Les Stachybotryotoxines sont les plus cytotoxiques des TCT : leurs effets nocifs s'expliquent par leur rôle inhibiteur de la synthèse protéique des cellules à forte activité mitotique comme les leucocytes (191).

Partie 2 : Dans l'industrie agro-alimentaire

I. Origine

A. Conditions de contamination

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 45). 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 (4).

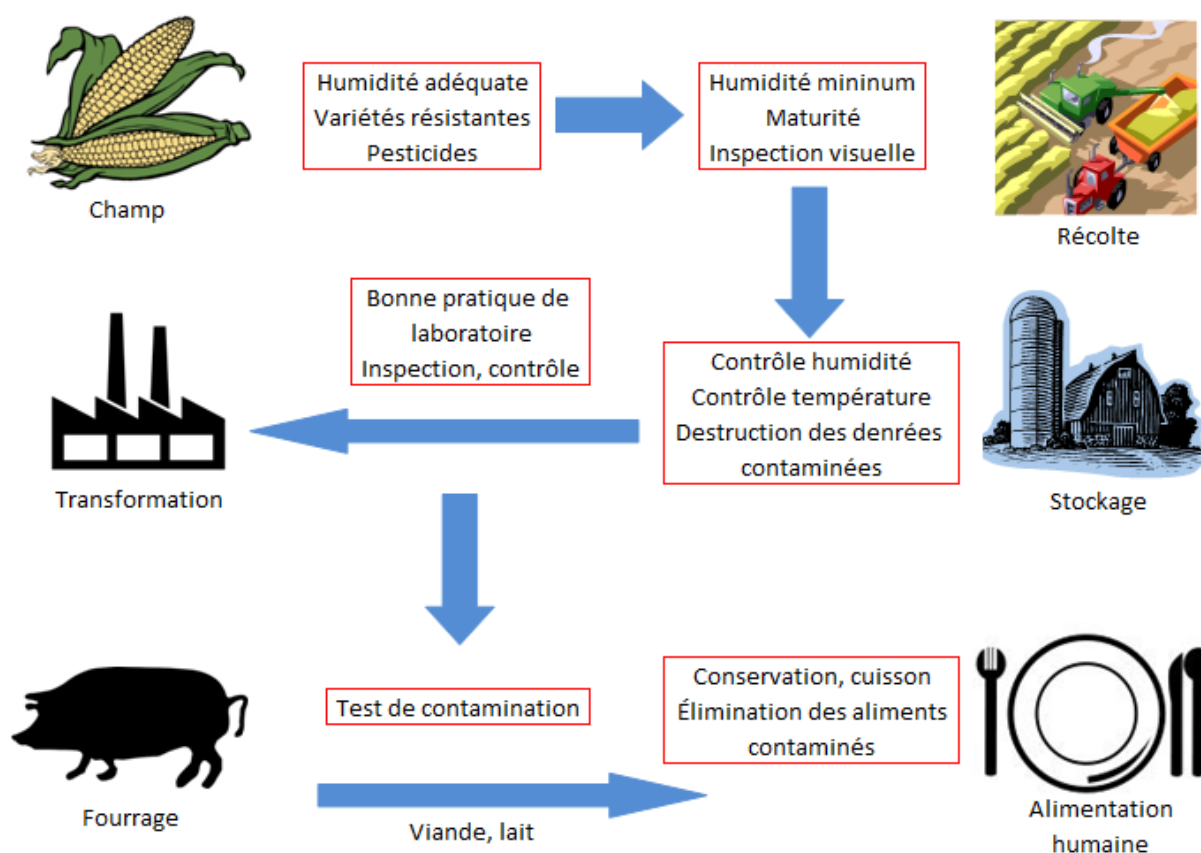


Figure 45 : Contamination le long de la chaîne alimentaire et moyens de prévention (4)

Comme précisé dans la Partie 1, les toxines fongiques sont principalement produites par cinq genres de champignons : *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Claviceps* et *Alternaria*. Ils sont classés en quatre groupes, selon le lieu où ils se développent (4) :

- Les mycètes dont la croissance se produit sur des plantes sénescentes ou stressées. C'est par exemple le cas de *Fusarium moniliforme* (Fumonisines) et *Aspergillus flavus* (Aflatoxines).
- Les champignons directement pathogènes pour la plante comme *Fusarium graminearum* (Zéaralénone).

- Les champignons présents dans le sol et dans les débris putréfiés, et qui proliféreront lors du stockage (*Aspergillus ochraceus* et *Penicillium viridicatum*).
- Les mycètes colonisant initialement la plante et prédisposant celle-ci à la propagation de la toxine lors de la récolte. C'est le cas de *Fusarium roseum*, producteur de Trichothécènes.

B. Répartition géographique des principales mycotoxines

L'apparition des mycotoxines dans un milieu résulte d'un processus complexe. La toxinogénèse ne peut pas s'expliquer uniquement par l'apparition de conditions environnementales favorables. Elle est avant tout soumise aux conditions de croissance fongique (cf Partie 1 - Mycotoxinogénèse). C'est pourquoi la cartographie de la répartition des toxines à travers le monde est peu précise.

La société BIOMIN (192, 193) a dressé en 2013 la carte des taux de contamination des mycotoxines dans différentes régions du monde (figure 46).

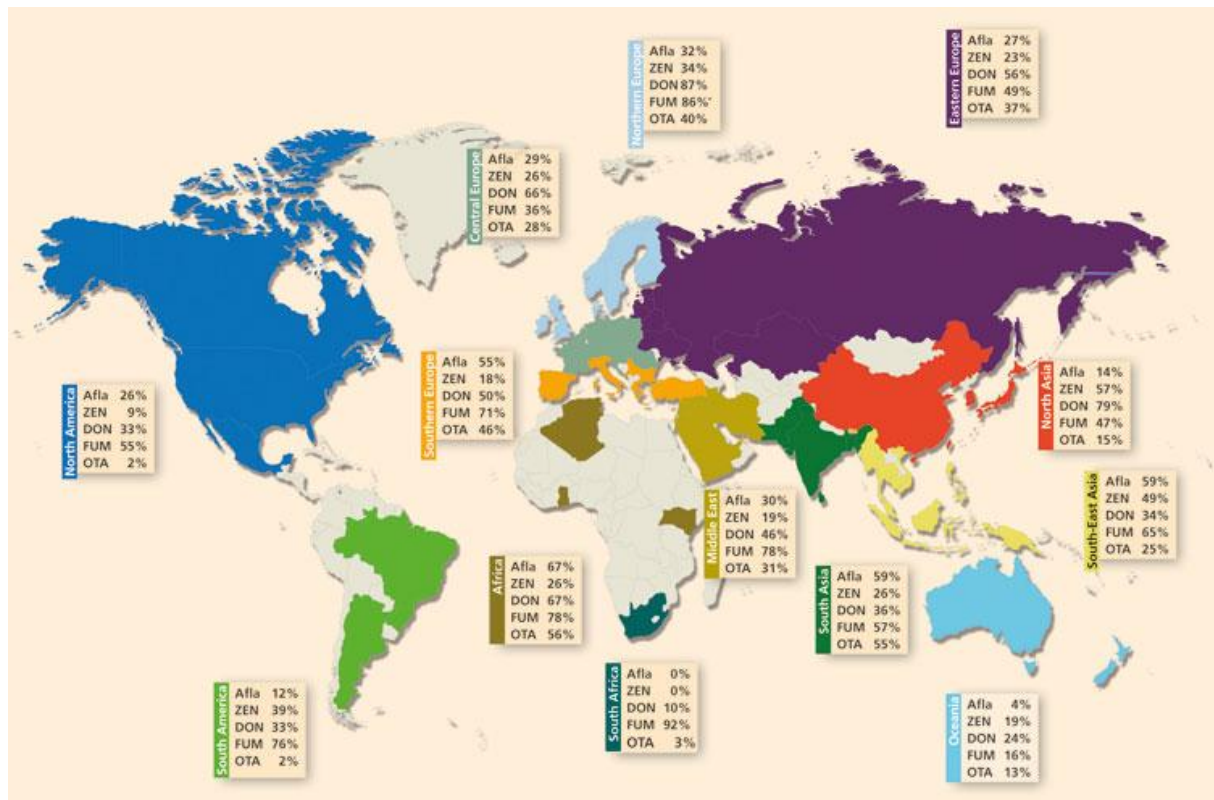


Figure 46 : Taux de contamination alimentaire des principales mycotoxines dans différentes régions du monde (192, 193)

C. 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. Chaque année dans le monde, les pertes de céréales dues aux mycotoxines sont estimées à 55 millions de tonnes (4).

2. Les fruits et légumes

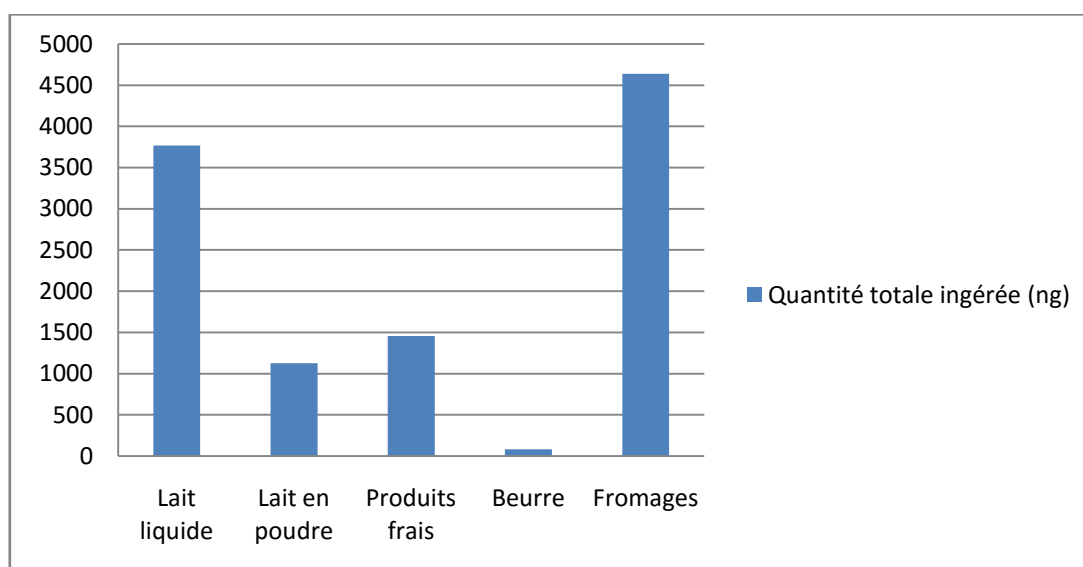
Les fruits et légumes sont recouverts d'une multitude de moisissures à l'état de spores, capables de proliférer facilement si les conditions de stockage sont mauvaises. Le genre *Penicillium* est le contaminant majoritaire des fruits : *Penicillium digitatum* pousse sur les agrumes, *P. expansum*, quant 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 *Byssochlamys spp* et *Humicola spp*, dont les spores résistent aux fortes températures (4).

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* (figure 47).

Figure 47 : Estimation des apports d'AFM₁, en nanogrammes (ng), par individu et par an, selon le type de produit laitier consommé (4)



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 (194). Toutefois, les toxines sont en grande partie éliminées lors de l'extraction des huiles et de l'étape de purification (4).

5. La 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 (4). 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 (4).

6. Filière viticole

Les vins et jus de raisin sont considérés, après les céréales, comme la deuxième source de contamination en Ochratoxine A (195). Cette contamination du vin s'explique par la présence, au vignoble, de nombreux champignons producteurs d'Ochratoxines. La concentration d'OTA croît de plus en plus avec les étapes de la maturation du raisin. Les dates des vendanges ont donc une incidence directe sur la teneur en OTA dans le vin (195).

D. Synthèse

Toxines	Principales moisissures productrices	Aliments concernés	Répartition Géographique
Aflatoxines	<i>Aspergillus nomius</i> <i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	Arachide, oléagineux coton, épices, poivre	Répartition mondiale Moins présentes en Asie
Ochratoxines	<i>A. verrucosum</i> <i>A. carbonarius</i> <i>A. viridicatum</i> , <i>A. ochraceus</i>	Céréales (avoine, orge, seigle) abats, café, cacao lait, soja	Europe du Nord, Inde Amérique du Sud Afrique Centrale
Fumonisines	<i>Fusarium verticillioides</i> <i>F. proliferatum</i>	Céréales (maïs, sorgho, blé), chips	Répartition mondiale Moins présentes en Europe et Canada
Zéaralénone	<i>F. graminearum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. crookwellense</i>	Céréales semoules, farines	Canada, Russie Asie du Sud-est
Alcaloïdes de l'ergot	<i>Claviceps purpurea</i> <i>C. paspali</i> , <i>C. africana</i>	Blé et dérivés, seigle graminées	Répartition mondiale
Trichothécènes	<i>F. graminearum</i> <i>F. culmorum</i> , <i>F. tricinctum</i> <i>F. crookwellense</i> , <i>F. poae</i>	Céréales, fruits ensilages, fourrages	Répartition mondiale Surtout en Europe
Patuline	<i>A. clavatus</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Byssochlamys nivea</i>	Fruits (abricots, pommes, raisin), vin	Répartition mondiale
Citrinine	<i>A. terreus</i> , <i>A. carneus</i> <i>A. niveus</i> <i>P. expansum</i> , <i>P. citrinum</i>	Céréales (maïs, riz, seigle) fruits secs, salaisons fromages	Europe du Nord et de l'Est, Amérique du Nord
Acide cyclopiazonique	<i>P. camemberti</i> , <i>A. flavus</i> <i>A. versicolor</i> , <i>A. tamaritii</i>	Céréales, lait légumineuses viandes, fromages	Même répartition que les Aflatoxines
Toxines trémorgènes	<i>P. roqueforti</i> , <i>P. crustosum</i> <i>A. clavatus</i> , <i>A. fumigatus</i>	Ensilages, fourrages fruits secs	Australie, Europe Nouvelle-Zélande
Stérigmatocystine	<i>A. nidulans</i> , <i>A. flavus</i> <i>A. versicolor</i>	Céréales (riz, maïs) café, fromages	Répartition mondiale
Sporidesmines	<i>Pithomyces chartarum</i>	Plantes fourragères poacées	Afrique du Sud Nouvelle-Zélande Australie, Pays Basque
Phomopsines	<i>Phomopsis leptostromiformis</i>	Légumineuses (lupins)	États-Unis, Europe Afrique du Sud Nouvelle-Zélande
Toxines d'<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria solani</i> <i>Alternaria alternata</i>	Céréales (sorgho, riz) tabac, fruits, légumes	Répartition mondiale
Stachybotryotoxines	<i>Stachybotrys chartarum</i>	Ensilages, fourrages poacées canne à sucre	Europe de l'Est

Figure 48 : Tableau récapitulatif (4, 29, 42, 70)

II. Évaluation du risque chez l'Homme

A. Estimation de la Dose Journalière Admissible (DJA)

La dose journalière admissible (DJA), ou dose journalière tolérée (DJT), désigne la quantité maximale théorique de substance qui peut être administrée, quotidiennement et pendant toute la vie, à un individu (sensible ou non) sans risque de provoquer l'apparition d'effets néfastes pour sa santé. La DJA s'exprime généralement en milligramme de substance ingérée par kilogramme de poids corporel, et par jour (mg/kg/j). L'estimation de la DJA sert à protéger le consommateur et à simplifier les échanges commerciaux au niveau international (figure 49).

Toxine	AFB ₁	AFM ₁	OTA	ZEA	Patuline	Fumonisines B
DJA (ng/kg/j)	0,15	0,2	14	100	400	2

Figure 49 : DJA des principales mycotoxines (4, 70)

Les DJA sont déterminées, au niveau mondial, par *le Joint Expert Committee of Food and Additives* (JECFA) ; le JECFA est composé d'experts de la FAO et de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), chargés d'évaluer l'innocuité à long terme des substances toxicologiques étudiées.

Le calcul de la DJA passe d'abord par la détermination d'une « Dose Sans Effet Toxique Observable » (DSETO), chez l'animal le plus sensible à la substance en question. La DSETO correspond donc à la dose seuil en dessous de laquelle aucun effet nuisible n'est observé. Elle s'exprime également en mg/kg/j. La DJA est obtenue en divisant cette DSETO par un facteur de sécurité (de 100 à 1000). Ce facteur fournit une large marge de sécurité, afin de compenser l'absence d'expérimentation chez l'Homme et les différences de sensibilité Homme/animal. Si l'ingestion est inférieure à la DJA, on peut affirmer avec certitude qu'il n'existe aucun danger pour la santé. Par ailleurs, la consommation ponctuelle de doses supérieures à la DJA ne pose théoriquement pas de problème compte tenu de la grande marge de sécurité appliquée (196).

B. Réglementation en alimentation humaine

En raison des effets toxiques qu'elles provoquent, les mycotoxines introduites dans la chaîne alimentaire peuvent exposer l'Homme à certains problèmes de santé. L'Organisation Mondiale de la Santé a reconnu que la contamination des denrées par les mycotoxines constitue une source non négligeable de maladies d'origine alimentaire (197). Par conséquent, de nombreux pays (environ une centaine) ont adopté des réglementations concernant les teneurs en toxines fongiques dans les denrées destinées à l'alimentation humaine et animale. Des règles ont tout d'abord été édictées au niveau national, puis européen.

Au niveau européen, c'est l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) qui supervise l'évaluation des risques liés à la sécurité des aliments destinés à l'alimentation animale et humaine. En collaboration avec les autorités nationales (comme l'AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments), l'EFSA fournit des normes et avis scientifiques sur les risques sanitaires. Des valeurs toxicologiques de référence sont alors adoptées par tous les pays membres de l'Union Européenne. Au niveau mondial, l'OMS et la FAO (JECFA) ont créé le *Codex Alimentarius* qui fixe les directives et les recommandations pour tous les pays du monde (198). Ces valeurs de référence ont pour but de faciliter les échanges commerciaux de denrées alimentaires (figure 50).

Toxine	Denrées concernées	CMA (µg/kg)
Aflatoxine B1	Arachide	2 à 8
	Céréales	2 à 5
	Épices	5
	Préparations pour enfants en bas âge	0,1
Aflatoxines B1, B2 G1, G2	Arachide	4 à 15
	Céréales	4 à 10
	Épices	10
Aflatoxine M1	Lait	0,05
	Préparations pour enfants en bas âge	0,025
Ochratoxine A	Céréales brutes	5
	Produits céréaliers et dérivés	3
	Préparations pour enfants en bas âge	0,5
	Raisins secs	10
	Café	5 à 10
	Vins, jus de raisin, moûts	2
Déoxynivalénol	Céréales (sauf blé, maïs et avoine)	1250
	Blé dur, avoine	1750
	Maïs brut	1750
	Farines et semoules de céréales	750
	Pains, pâtisseries, biscuits, snacks	500
	Pâtes sèches	750
	Céréales pour alimentation infantile	200
Ergot	Blé tendre, blé dur et seigle	5 000 000
Zéaralénone	Céréales et maïs	100 à 200
	Farines autres que maïs	75
	Farines et semoules de maïs	200
	Pains, pâtisseries, biscuits, snacks	50
	Aliments infantiles à base de céréales et maïs	20
Fumonisine B1	Maïs	2000
	Farines, semoules et huiles de maïs	1000
Fumonisine B2	Aliments à base de maïs	400
	Alimentation infantile à base de maïs	200
Patuline	Jus de fruits, boissons à base de pomme, compotes	25 à 50
	Jus de fruits, boissons à base de pomme pour enfants en bas âge	10

Figure 50 : CMA des mycotoxines réglementées dans l'alimentation humaine (199)

À ce jour, seules les toxines les plus préoccupantes sont soumises à réglementation. Les toxines concernées sont : l'**OTA**, les **Aflatoxines** (B₁, B₂, G₁, G₂, M₁), le **DON**, la **ZEA**, la **Patuline** et les **Fumonisines** B₁ et B₂. Dans le cas de l'ergot, ce ne sont pas les alcaloïdes qui sont réglementés mais la quantité de sclérotes présents dans les matières premières. C'est le règlement européen n° 1881/2006, du 19 décembre 2006 (199), qui fixe les concentrations maximales autorisées (CMA) de mycotoxines dans les denrées alimentaires humaines.

Ces limites sont fixées pour les céréales brutes et les produits transformés. Les denrées dépassant les CMA, pour une toxine spécifique, ne peuvent pas être mises sur le marché de l'alimentation.

III. Impact économique

A. Sur l'agriculture

Il est très difficile d'évaluer avec certitude les pertes économiques dues aux toxines fongiques. La *Food and Drug Administration* (FDA) a estimé la perte due aux Aflatoxines, aux TCT et aux Fumonisines, à 392 millions de dollars en 2003 aux États-Unis (200). Toujours d'après la FAO, 25 % des cultures vivrières mondiales seraient atteintes chaque année par des moisissures toxigènes, ce qui engendrerait une perte de près de un milliard de tonnes par an (201). Ces pertes viennent amplifier le problème lié à une production insuffisante, ne permettant pas de répondre à la demande de l'ensemble de la population mondiale. Les pertes financières ne sont pas uniquement dues aux dommages subits par les cultures et les élevages, mais aussi aux retraits du marché de lots d'aliments contaminés et à l'application de CMA exigeantes. Une étude du JEFCA estime que l'application, par l'Union Européenne, de CMA trop basses d'Aflatoxines (4 µg/kg) sur les fruits secs (amandes, noisettes...) causerait une perte de 9 millions d'euros dans le monde (202). Dans ce cas là, le pays exportateur de matières premières est le plus touché. Afin de limiter les pertes dues à une réglementation trop stricte, les CMA sont en constante évolution. Ainsi en 2007, l'EFSA a conclu que l'augmentation à 10 µg/kg des CMA d'Aflatoxines dans les fruits secs n'avait aucune conséquence sur le risque cancérogène induit par les Aflatoxines (203).

B. Sur l'élevage

Dans les pays d'Amérique du Nord, la production animale connaît des pertes énormes, estimées à des milliards de dollars chaque année (203). La contamination des aliments destinés aux animaux est à l'origine d'une réduction de performance de production, d'effets délétères sur la santé de l'élevage, de troubles de la reproduction (ZEA) et d'un éventuel transfert de toxines dans les tissus comestibles de l'animal (204). Tous ces facteurs ont un impact direct sur les pertes économiques liées aux moisissures.

Partie 3 : Incidence sur la santé humaine

I. Rappels

A. Voie de contamination

L'exposition de l'Homme aux mycotoxines et aux champignons s'effectue essentiellement par ingestion d'aliments contaminés. Néanmoins, une exposition par inhalation ou par voie cutanée demeure possible. Les mycotoxines n'étant pas volatiles aux basses températures, une contamination par voie respiratoire peut se produire lors de l'inhalation de particules contenant des toxines (conidies, poussière de substrat, fragments microscopiques de mycélium...). En milieu de travail, les voies respiratoires et cutanées sont souvent atteintes par des mycotoxicoses et des mycoses (76).

B. Les risques

La contamination des aliments destinés à l'Homme ou à l'animal peut provoquer un certain nombre de maladies. On peut distinguer, en médecine humaine et vétérinaire, quatre types d'affections dues aux champignons au sens large (4).

1. Les allergies

Les allergies dues aux champignons répondent aux caractères généraux de ce type d'affections : rhinite, conjonctivite, bronchite, toux... Le vecteur de ces allergies est le plus souvent l'air ambiant, mais il semblerait que les aliments puissent aussi y contribuer (4).

Chez l'Homme, l'inhalation d'éléments mycéliens (ou de spores) émis dans l'air entraîne des pathologies respiratoires caractérisées par des altérations du système immunitaire, une inflammation des voies respiratoires, de l'asthme et des mycoses allergiques pulmonaires. Les allergies aux champignons peuvent aussi se traduire par des signes cutané-muqueux comme des dermatites, de l'eczéma ou de l'urticaire.

Les allergies aux mycètes touchent particulièrement certaines professions du milieu agricole qui sont considérées à risque vis-à-vis des pathologies respiratoires (aiguës ou chroniques), liées à l'inhalation de toxines (204). D'autre part, des études ont mis en évidence un accroissement des allergies provoquées par des *Penicillia* et des *Aspergilli* (très allergènes), notamment chez les personnes immunodéficientes (4).

2. Les mycoses

Les mycoses sont des infections parasitaires (superficielles ou profondes) provoquées par des champignons microscopiques qui pénètrent dans les tissus et s'y développent.

Pour qu'un champignon soit pathogène pour l'Homme, il faut qu'il puisse s'adapter aux paramètres physiologiques de l'hôte (température d'environ 37°C). On distingue deux types d'atteintes :

- **Les mycoses superficielles** représentent 10 % des maladies de peau. Elles sont généralement bénignes, mais selon leur localisation elles peuvent être plus ou moins handicapantes. Les dermatophytes (*Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*) sont kératinophiles, ils ont donc un tropisme pour les phanères (poils, ongles), au niveau desquels ils causent des dermatophytoses (teignes et onychomycoses). Les dermatophytes respectent les muqueuses mais peuvent, néanmoins, se développer sur la peau glabre (intertrigo interdigito-plantaire, intertrigo inguinal). Les levures des genres *Malassezia* et *Candida* (figure 51) sont aussi à l'origine de dermatophytoses qui se traduisent par des atteintes cutané-muqueuses (muguet, perlèche, stomatite, vulvovaginite...).



Figure 51 : Candidose buccale causée par *Candida albicans* (6)

- **Les mycoses profondes** (ou systémiques) constituent les formes les plus graves de mycoses. Elles font partie des maladies opportunistes qui se développent de préférence chez les individus immunodéprimés. Les mycoses profondes sont définies soit par une localisation au niveau du derme profond, ou des tissus sous-cutanés, soit par une invasion des organes profonds. Les principales mycoses profondes sont l'aspergillose pulmonaire, la cryptococcose qui touche les méninges (ou les poumons) et les candidoses généralisées affectant le cœur, les poumons et les méninges (205).

3. Le mycétisme

On appelle mycétisme l'ensemble des intoxications dues à la consommation de « champignons supérieurs ». Ce sont des champignons macroscopiques qui synthétisent et stockent des composés appelés endotoxines (par opposition aux mycotoxines qui sont des exotoxines). La majorité des intoxications sont causées par des champignons appartenant à la division des Basidiomycètes : *Amanita phalloides* (syndrome phalloïdien), *Cortinarius orellanus* (syndrome orellanien), *Tricholoma equestre* (syndrome de rhabdomyolyse), *Coprinus atramentarius* (syndrome coprinien), etc.

Les syndromes sont classés selon leur durée d'incubation : 30 minutes à 2 heures (pronostic favorable) ou plus de 6 heures (pronostic défavorable). Les symptômes sont variés : signes digestifs (vomissements, diarrhées), insuffisance rénale aiguë, atteintes nerveuses (convulsions, coma), insuffisance hépatocellulaire...

4. Les mycotoxicoses

Les mycotoxicoses sont provoquées par l'absorption unique, ou répétée, d'aliments contaminés par des exotoxines de moisissures. Les cas d'intoxication aiguë sont rares chez l'Homme. Ce sont généralement les ingestions répétées dans le temps qui engendrent des intoxications chroniques. Le caractère insidieux des mycotoxines fait qu'elles sont difficilement détectables et qu'il est difficile de leur imputer la survenue de tel ou tel symptôme.

Pour qu'un composé soit considéré comme responsable de mycotoxicose, cinq critères doivent être remplis :

- La présence de la toxine dans les denrées doit être établie.
- L'exposition de l'Homme à cette toxine doit être mise en évidence.
- Il doit y avoir corrélation entre une éventuelle exposition et l'incidence de la maladie. Cette corrélation ne peut être mise en évidence que par des études épidémiologiques.
- Les signes observés doivent être reproductibles chez l'animal.
- La toxine doit présenter un mode d'action similaire chez l'Homme et l'animal (4).

Pour déterminer si l'Homme est exposé aux toxines fongiques, il est possible d'analyser les aliments consommés ou de mesurer les métabolites dans les tissus et les fluides (biomarqueurs). Néanmoins, l'absence de marqueurs biologiques ne traduit pas nécessairement une absence de contamination (4).

II. Manifestations cliniques

A. Lésions causées par les mycotoxines

La toxicité des mycotoxines peut s'exprimer de façon aiguë ou chronique chez les organismes ingérant des produits alimentaires contaminés. Les intoxications aiguës, faisant suite à une ingestion unique de doses massives de toxines, sont très marquées mais demeurent heureusement exceptionnelles. Les expositions chroniques (expositions répétées à de faibles doses) sont plus à craindre en raison de leur caractère insidieux et du pouvoir de rémanence des mycotoxines. Bien que le risque existe, les intoxications aiguës et chroniques restent rares chez l'Homme alors que les animaux, notamment d'élevage, sont particulièrement exposés aux mycotoxicoses du fait de l'importance des céréales dans leur alimentation.

Il convient de noter qu'au sein d'une même famille structurale de toxines la toxicité peut varier sensiblement d'une toxine à l'autre, et que le danger ne provient pas obligatoirement de la molécule elle-même mais de l'un de ses métabolites (70, figure 52).

Figure 52 : Modes d'action et effets identifiés des principales mycotoxines (70)

Toxines	Toxicité	Mécanismes d'action
Aflatoxines	Hépatotoxicité, Génotoxicité Immunotoxicité Cancérogénicité	Formation d'adduits à l'ADN Peroxydation lipidique Conjugaison à la Glutathion-transférase
Ochratoxines	Néphrotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Modification de la synthèse protéique Inhibition de la production d'ATP Détoxification par les peptidases
Fumonisines	Neurotoxicité Hépatotoxicité, Génotoxicité Immunomodulation	Inhibition de la synthèse des céramides Altération du cycle cellulaire Action sur le rapport Sphingosine/Sphinganine
Zéaralénone	Toxique pour la reproduction Toxique pour la fertilité	Action œstrogénique Conjugaison à la glucuronyltransférase Bio-activation par des déshydrogénases
Alcaloïdes de l'ergot	Cancérogénicité Génotoxicité Toxicité vasculaire	Action dopaminergique Effets vasoconstricteurs Effets ocytociques
Trichothécènes	Hématotoxicité Toxicité cutanée Immunomodulation	Altération des immunoglobulines Modification de la synthèse protéique Induction de l'apoptose des cellules immunitaires
Patuline	Mutagenèse Immunotoxique Neurotoxique	Inhibition indirecte de nombreuses enzymes (ADN et ARN polymérases)

B. Implication avérée des mycotoxines dans des épidémies humaines

1. Néphropathie Endémique des Balkans

a. Origine et causes

La Néphropathie Endémique des Balkans (NEB) est une néphrite tubulo-interstitielle chronique. Le terme « néphrite » désigne l'inflammation du tissu rénal. Son étiologie est mal connue, mais il semblerait que la consommation répétée de céréales contaminées par l'OTA (produite par *Aspergillus ochraceus* et *Penicillium verrucosum*) soit l'un des facteurs favorisant son apparition.

Elle est endémique de certains pays du Sud-est de l'Europe : Bulgarie, Croatie, Roumanie, Serbie. Une augmentation inhabituelle du nombre d'insuffisances rénales chroniques y a été observée depuis 1956 (70), et concernerait 10 à 30 % des populations rurales (70). Les femmes sont le plus souvent atteintes d'insuffisance rénale, tandis que chez les hommes ce sont les cancers rénaux qui prédominent.

La NEB est caractérisée par une évolution lente de l'insuffisance rénale, qui est initialement asymptomatique. À long terme, elle est susceptible de conduire à une atrophie rénale sévère, voire à l'apparition de tumeurs du haut appareil urinaire chez l'Homme (206, 207).

b. Symptomatologie

Les premiers symptômes de l'insuffisance rénale, caractéristique de la NEB, apparaissent après une lente évolution sans qu'il y ait eu d'épisode aigu auparavant. L'insuffisance rénale s'explique par une altération de la fonction des tubules rénaux et de la fonction glomérulaire (4).

La NEB débute par une anémie et une légère protéinurie, sans hypertension ni œdème. Le tableau clinique est ensuite complété par une acidose tubulaire, une hyperuricémie, une glycosurie, une créatininémie, une urémie, une enzymurie (augmentation de l'élimination urinaire de la γ -glutamyl-transférase, de la phosphatase alcaline et de la lactate-déshydrogénase), ainsi que par une augmentation des immunoglobulines G et M dans le sang (4, 208).

La maladie évolue sur 2 à 10 ans jusqu'à l'atrophie du rein, une fibrose corticale sans inflammation et une nécrose des tubules proximaux des reins. On observe la survenue progressive d'une perte d'élasticité des tissus interstitiels situés entre les néphrons (unités fonctionnelles et structurales du rein), aboutissant lentement à l'atrophie des reins (diminution de leur fonction ainsi que de leur volume). La NEB peut évoluer ainsi jusqu'à l'apparition de cancers des voies urinaires supérieures (bassinets, uretères) (203, 208).

Toutes ces atteintes sont accompagnées de symptômes plus généraux tels que des céphalées fréquentes, une asthénie, des douleurs lombaires et un amaigrissement (4, 209, figure 53).

Signes cliniques	Anémie, asthénie, migraine, polyurie douleurs lombaires, dysgueusie insuffisance rénale, amaigrissement
Signes biochimiques	Urémie, protéinurie, acidose, glycosurie microglobulinémie, enzymurie
Signes immunologiques	Augmentation des immunoglobulines G et M
Signes anatomo-pathologiques	Fibrose interstitielle, hyalinisation glomérulaire nécrose tubulaire, atrophie rénale, œdèmes interstitiels, dégénérescence des tubules proximaux

Figure 53 : Récapitulatif des caractéristiques de la NEB chez l'Homme (4, 209)

c. Traitement et prise en charge

La première mesure à prendre est d'exclure de la consommation les aliments contaminés. Le traitement de l'insuffisance rénale chronique est avant tout symptomatique. Il n'a pas pour but de guérir, mais de ralentir voire de stopper la progression de la maladie (210).

i. Traitement médicamenteux

- **Antihypertenseurs** : un contrôle de l'hypertension artérielle diminue les dommages subis par les reins. L'objectif tensionnel est de 130/80 mmHg.

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (bénazépril, captopril) et les sartans (losartan, irbésartan) sont utilisés en première intention en raison de leur action directe sur le système rénine-angiotensine (rôle dans l'équilibre hydrosodé). Ils peuvent être associés à des diurétiques de l'anse (furosémide, bumétanide).

- **Les compléments en fer** permettent de limiter l'anémie causée par l'insuffisance rénale.
- **Les alcalinisants** permettent de compenser l'acidose sanguine provoquée par une chute des bicarbonates.
- **Les agents stimulant l'érythropoïèse** sont des dérivés de l'EPO (érythropoïétine), hormone favorisant la production de globules rouges. Ils visent à maintenir une hémoglobinémie proche de la normale : 14 à 18 g/dL pour l'homme et 12 à 16 g/dL pour la femme.
- **Les médicaments du métabolisme phosphocalcique**, dont font partie la vitamine D et ses dérivés (alfacalcidol), sont utilisés pour prévenir la rétention de phosphore et les éventuelles carences en calcium.
- **Les chélateurs du phosphore** : les sels d'aluminium et le sévélamer agissent en complexant le phosphore dans la lumière intestinale, réduisant ainsi la phosphorémie et le risque d'hyperparathyroïdisme secondaire.
- **Les sels de calcium** augmentent l'apport oral de calcium (carbonate de calcium), réduisant ainsi la carence due à la baisse de production de la forme active de la vitamine D par les reins (210).

ii. Mesures hygiéno-diététiques

La première mesure proposée au malade est généralement la modification du régime alimentaire. Ces mesures peuvent permettre d'éviter d'avoir recours à la dialyse. Une réduction de l'apport protéique permet de limiter l'accumulation de déchets dans le sang. Les apports en sodium et en lipides doivent être limités afin d'éviter toute aggravation de l'hypertension artérielle. En revanche, le patient peut boire à sa soif, sans toutefois dépasser 1,5 à 2 litres d'eau par jour.

iii. Dialyse et transplantation rénale

Pour certains patients une dialyse s'impose. Elle s'effectue à l'aide d'un appareil d'hémodialyse qui a pour rôle de suppléer un rein qui a cessé de fonctionner, temporairement ou définitivement.

Dans les cas les plus sévères, une greffe rénale doit être envisagée : le rein peut alors provenir d'un donneur vivant ou d'un donneur qui vient de décéder. Cependant, le greffon a une durée de vie d'une dizaine d'années et ne dispense pas le patient de traitements médicamenteux (corticoïdes, immunosuppresseur).

2. Ergotisme

a. Origine et causes

L'ergotisme, aussi connu sous le nom de « Feu de Saint Antoine » ou de « Mal des ardents », résulte d'une intoxication due à l'ingestion de sclérotés contenant des alcaloïdes produits par des champignons du genre *Claviceps* (*C. purpurea*, *C. paspali*, *C. fusiformis*), contaminants communs des cultures céréalières (seigle, avoine, blé...).

L'ergotisme est connu depuis longtemps chez de nombreuses espèces animales (ovins, bovins, porcins) mais aussi chez l'Homme. Le « Feu de Saint Antoine » était très fréquent au Moyen Age. Les malades, qui souffraient d'hallucinations et de mouvements incontrôlés, étaient accusés de sorcellerie et de possession. Dans les cas extrêmes, les malades se plaignaient d'être dévorés par le feu et décédaient des suites de complications de gangrène des membres. La responsabilité du pain fabriqué à partir de grains de seigle contaminés n'est envisagée qu'à la fin du 17^{ème} siècle (211).

Les derniers cas d'ergotisme dans le monde se sont produits en Éthiopie en 1978, et en Inde en 1975 (211). En France, le dernier épisode d'ergotisme remonte à 1951 avec « l'affaire du pain maudit » qui affecta 300 personnes d'un village du Sud de la France, qui manifestèrent un comportement anormal (hallucinations, hyperactivité motrice). De nos jours, la maladie a beaucoup régressé grâce aux méthodes de prévention limitant la croissance fongique.

À ce jour, les principaux symptômes d'ergotisme résultent essentiellement d'un surdosage médicamenteux des dérivés des alcaloïdes de l'ergot, ou de l'interaction médicamenteuse de ces derniers avec des antibiotiques de la famille des macrolides (azithromycine, clarithromycine) (212). Les macrolides étant des inhibiteurs enzymatiques du cytochrome P3A4 (intervenant dans la dégradation de nombreux composés), les concentrations sanguines des dérivés des alcaloïdes de l'ergot augmentent alors, décuplant ainsi leurs effets secondaires.

La répartition géographique des différentes formes d'intoxication était variable. En France, c'était la forme gangréneuse qui prédominait tandis qu'en Allemagne c'était la forme nerveuse qui était la plus fréquemment rencontrée. Cette répartition pouvait s'expliquer par la différence d'espèces productrices et la différence de pharmacologie entre les alcaloïdes sécrétés.

b. Symptomatologie

Selon le type d'intoxication, il existe différentes formes d'ergotisme :

- **La forme gangréneuse** se manifeste suite à des ingestions répétées d'alcaloïdes. Elle est aussi appelée gangrène sèche des extrémités.
- **La forme convulsive (ou nerveuse)** est provoquée par l'ingestion unique et massive d'alcaloïdes.

- Chez les animaux, notamment les mammifères herbivores, il existe une troisième forme qui se déclare par des **troubles de la reproduction**.

Les deux formes d'ergotisme décrites chez l'Homme (gangréneuse et nerveuse) présentent des signes généraux communs tels que des vomissements, une dégradation de l'état général, des douleurs musculaires et lombaires, de la diarrhée, une polydipsie, des réactions cutanées et une fonction mentale réduite (211).

i. *Forme gangréneuse*



Figure 54 : Différents stades du syndrome de Raynaud (6)

La gangrène sèche est le résultat d'une vasoconstriction induite par les alcaloïdes, comme l'ergotamine et l'ergocristine. Les alcaloïdes provoquent la stimulation des cellules musculaires lisses par l'intermédiaire des récepteurs α et β -adrénergiques. L'ischémie qui résulte de la vasoconstriction affecte alors les structures distales les plus mal vascularisées telles que les tissus périphériques (pieds et mains). On parle alors de syndrome de Raynaud, qui se traduit par un engourdissement et des douleurs des extrémités (figure 54).

Les premiers signes se manifestent par une inflammation douloureuse des extrémités, puis par un noircissement et un dessèchement des tissus. Quelques semaines après la manifestation des premiers signes de gangrène, une vive sensation de brûlure apparaît. La gangrène est très rarement

suppurative mais peut aboutir à la perte spontanée d'un membre au niveau d'une articulation. Les pieds et les jambes sont les membres les plus rapidement affectés. Suivent ensuite les mains et les bras. Généralement, l'ischémie est bilatérale.

Que ce soit dans le cas d'une intoxication naturelle ou iatrogène, c'est l'action vasoconstrictrice de l'ergotamine qui est à l'origine des symptômes. Les récepteurs α et β -adrénergiques sont fortement représentés dans l'organisme, que ce soit au niveau cardiaque, vésical, pulmonaire ou encore oculaire. L'ergotamine et les autres alcaloïdes sont donc susceptibles de toucher tous les vaisseaux sanguins de l'organisme, et de surcroît tous les organes. Quand l'effet vasoconstricteur s'étend au reste de l'organisme, on peut observer :

- **Une insuffisance rénale** provoquée par une vasoconstriction de l'artère rénale.
- **Une ischémie myocardique** due à une atteinte coronaire, à l'origine de crises d'angine de poitrine voire d'infarctus du myocarde.
- Une vasoconstriction des vaisseaux splanchniques pouvant entraîner la formation d'**infarctus intestinaux**.

- **Une atteinte du nerf optique** entraînant une perte, temporaire ou définitive, de la vision.

Aujourd'hui, la forme convulsive est surtout rencontrée dans le cas d'intoxications chroniques dues à un surdosage médicamenteux ou à une association contre-indiquée de macrolides et de dérivés des alcaloïdes de l'ergot (211).

ii. Forme convulsive

La forme convulsive est la forme la plus sévère d'ergotisme. Elle est essentiellement due à une intoxication aiguë. Elle est caractérisée par la répétition de crises épileptoïdes qui peuvent aboutir à la mort du malade.

Les cas les moins graves se traduisent par un simple fourmillement des extrémités. Dans les intoxications plus sévères, des contractions cloniques (brèves et répétées) accompagnées de douleurs sont observées. Par la suite, une faiblesse musculaire, des contractures, une hémiparésie et des perturbations sensorielles (de type paresthésie) apparaissent. Des troubles mentaux (manie, psychose, désorientation), des convulsions et des hallucinations se révèlent plus tardivement (211).

c. Traitement et prise en charge

Dès l'apparition des premiers signes d'ergotisme, un arrêt immédiat du médicament incriminé, ou de l'aliment contaminé, s'impose. Si les premiers signes sont accompagnés de troubles mentaux, une hospitalisation doit être envisagée.

En cas d'intoxication aiguë, une évacuation digestive par lavage gastrique et une prise en charge symptomatique doivent être mises en œuvre en milieu hospitalier. Par ailleurs, l'administration de charbon actif permet de diminuer l'absorption digestive des alcaloïdes.

Le malade devra être placé sous surveillance cardiovasculaire étroite et mis sous traitement d'urgence en cas d'ergotisme vasculaire. Le traitement du spasme vasculaire est basé sur l'administration de dérivés nitrés vasodilatateurs (trinitrine, isosorbide dinitrate) par voie sublinguale ou injectable. Ils peuvent être associés soit à un diurétique de l'anse (furosémide ou bumétanide injectables) soit à un antihypertenseur injectable, de type inhibiteur calcique (nicardipine) ou bêtabloquant (labétolol). Le patient sera aussi placé sous traitement anticoagulant (héparine en perfusion). Ce traitement peut être complété par une mise sous traitement anti-inflammatoire (corticoïdes) et antiagrégant plaquettaire.

Des frictions et des bains chauds des membres froids et engourdis peuvent aussi être mis en œuvre afin de favoriser une dilatation vasculaire, et donc une meilleure circulation.

3. Aleucie Toxique Alimentaire

a. Origine et causes

L'Aleucie Toxique Alimentaire (ATA) a été décrite pour la première fois en Russie en 1913 (4). Durant la Seconde Guerre Mondiale, plusieurs épidémies ont eu lieu en Sibérie. C'est en 1970 que la Toxine T-2, isolée de *Fusarium sporotrichoides* et de *Fusarium poae*, a été identifiée comme agent responsable de l'ATA (213, 214). Les études épidémiologiques révèlent une saisonnalité de la maladie : elle n'affecterait que les individus ayant consommé des grains contaminés durant l'hiver (215).

b. Symptomatologie

L'évolution clinique et lésionnelle de l'aleucie toxique alimentaire a été divisée en trois stades.

i. Stade 1

Le premier stade apparaît dans les heures suivant l'ingestion de denrées contaminées. Ce stade précoce se traduit par des sensations de brûlures au niveau de la bouche, de l'œsophage et de l'estomac. Après quelques jours, des signes de gastro-entérite apparaissent : nausées, vomissements, diarrhées et douleurs abdominales. Ces signes sont accompagnés d'une sudation excessive, sans fièvre. On observe également une hypersialie, une tachycardie, des céphalées, un léger syndrome de Raynaud, une œsophagite, une gastrite et, dans de rares cas, des convulsions et des accidents vasculaires (213).

Si les aliments contaminés sont rapidement identifiés et exclus de la consommation, les symptômes persistent 2 à 3 jours puis régressent rapidement. Sinon, les symptômes régressent spontanément après 5 à 9 jours (213).

ii. Stade 2

Bien que la Toxine T-2 exerce son action toxique sur la moelle osseuse, le stade 2 est asymptomatique. Seuls quelques signes non spécifiques peuvent apparaître tels que des maux de têtes, une tachycardie, une mydriase, une fatigue, un ictère et des vertiges (213).

Il y a néanmoins une modification des paramètres hématologiques. Ainsi, on note une leucopénie évolutive, une lymphocytose, une dégénérescence de la moelle osseuse (favorisant les infections) et une granulopénie associée à une altération des granulocytes neutrophiles. S'ensuivent une érythropénie, une thrombopénie et une diminution significative de l'hémoglobinémie.

Cette phase s'étend sur 2 à 8 semaines. Si l'aliment est exclu rapidement, la guérison peut être complète, sinon le stade 3 survient rapidement (213, 216).

iii. Stade 3

L'apparition du stade 3 est assez brutale. De sévères lésions dermiques apparaissent en même temps que des lésions hémorragiques, notamment dans la cavité buccale. Des nécroses et hémorragies digestives, des lésions purpuriques (figure 55) et des pétéchies apparaissent simultanément.



Figure 55 : Exemple de lésions purpuriques (6)

Les altérations des paramètres hématologiques de la phase 2 s'aggravent et des œdèmes lymphatiques se forment dans l'ensemble de l'organisme (4). L'hypotension devient flagrante et s'aggrave nettement.

Les analyses biochimiques mettent en évidence une hypercalcémie ainsi qu'une perturbation de la fonction hépatique qui s'exprime par une diminution des métabolismes glucidique et protéique.

Des complications pulmonaires peuvent apparaître à ce stade : hémorragies, abcès et bronchopneumonie. Le diagnostic n'est souvent réalisé qu'à ce stade et conduit au retrait de l'aliment incriminé (213, 216).

iv. Évolution

Si la maladie n'est pas traitée à temps, la mort peut survenir par suffocation suite à l'apparition d'œdèmes des voies respiratoires et à un blocage du passage de l'air (4)

Sinon la durée de convalescence est fonction de la sévérité de la maladie et du délai de prise en charge. Les lésions nécrotiques et hémorragiques nécessitent au minimum deux semaines de convalescence. Le retour à la normale des paramètres hématologiques est plus long et demande un délai d'environ deux à trois mois (213, 216).

c. Traitement et prise en charge

La première mesure est, comme pour les autres mycotoxicoses, le retrait immédiat de l'aliment infesté. De manière générale, si l'aliment est rapidement exclu, les lésions et les signes cliniques régressent spontanément en quelques semaines.

Une réhydratation par perfusion, une injection de vitamines B et une antibiothérapie peuvent être envisagées afin d'accélérer la guérison. Dans les cas les plus sévères, une transfusion sanguine (213) peut être réalisée afin de traiter la pancytopenie (anémie, leucopénie, thrombopénie).

4. Hépatocarcinome

a. Origine et causes

L'hépatocarcinome, ou cancer hépatocellulaire, constitue la tumeur la plus fréquente des cancers primitifs du foie. Il se développe au départ des hépatocytes et est souvent confondu avec des lésions métastatiques de tumeurs primitives d'autres organes. On parle dans ce cas de cancers secondaires du foie. Son pronostic est sévère, avec une survie moyenne de 3 mois à 1 an à dater du diagnostic (217).

C'est le 8^{ème} cancer au monde par ordre de fréquence. L'incidence mondiale annuelle est d'environ 500 000 nouveaux cas par an. Dans les pays développés, son incidence a considérablement augmenté ces dernières années en raison de l'augmentation du nombre de cas d'hépatites B et C.

La cirrhose hépatique est la principale cause de cancer primitif du foie. Elle est à l'origine de 75 à 90 % des cas de tumeurs. Généralement, elle est le résultat d'infections virales (virus de des hépatites B et C), d'hémochromatose, de maladies auto-immunes ou d'une dépendance à l'alcool. En Afrique, des cas d'hépatocarcinome apparaissent simultanément à des intoxications aux Aflatoxines (*Aspergillus flavus*), ce qui laisse supposer une implication de celles-ci dans l'apparition de tumeurs hépatiques (4, 217).

b. Symptomatologie

Les signes cliniques de ce cancer sont peu spécifiques et ressemblent à ceux de la maladie hépatique préexistante (cirrhose) : asthénie, perte de poids, douleurs abdominales, troubles intestinaux... Une hépatomégalie et une douleur de l'hypochondre droit peuvent survenir, en réponse à une hypertension portale. Lors d'une décompensation cirrhotique, apparaissent un ictère, de l'ascite (épanchement liquidien abdominal) et des hémorragies digestives.

Dans les stades les plus avancés, des métastases se développent au niveau des poumons, des os et des glandes surrénales (217).

c. Traitement et prise en charge

Le traitement de l'hépatocarcinome repose sur le stade d'évolution de la tumeur, sa taille, le nombre de nodules, l'envahissement des vaisseaux intra-hépatiques, la présence ou non d'une cirrhose et la présence ou non de métastases.

Le seul traitement curatif est l'ablation chirurgicale de la tumeur. Ce traitement n'est proposé que lorsque la tumeur n'excède pas une certaine taille, ne présente pas de métastases et n'atteint pas les vaisseaux intra-hépatiques. Certaines tumeurs, les plus petites, peuvent être éliminées *in situ* par radiofréquences. Chez les patients « opérables », mais présentant une cirrhose, une greffe hépatique peut être envisagée.

Dans le cas où la tumeur n'est pas opérable, elle pourra être traitée par chimio-embolisation (injection d'anticancéreux directement dans les artères hépatiques irriguant la tumeur).

La prévention de l'hépatocarcinome passe par la mise à jour des vaccins contre l'hépatite B, le traitement des hépatites virales, le dépistage précoce du carcinome et une exclusion des Aflatoxines de l'alimentation (217).

C. Implication supposée des mycotoxines dans des maladies humaines

1. Maladie de Kaschin-Beck

a. Origine et causes

La maladie de Kashin-Beck (MKB), également connue sous le nom de « Maladie des gros os » (figure 56), est une affection de l'os et du cartilage, entraînant des retards de croissance ainsi que des déformations articulaires. Cette maladie semble être causée par une exposition aux *Alternaria spp* et *Fusarium spp*, productrices de TCT. Elle est endémique des populations rurales pauvres de la Chine, de la Corée du Nord et de la Sibérie (4).

L'étiologie précise de la maladie demeure controversée. Néanmoins, il semblerait qu'elle soit multifactorielle ; elle serait liée à de sévères carences nutritionnelles (notamment en sélénium), ainsi qu'à une contamination fongique des céréales. La carence en sélénium serait le facteur primordial qui prédisposerait les chondrocytes (cellules cibles) au stress oxydatif généré par des producteurs de DRO, comme les toxines fongiques.

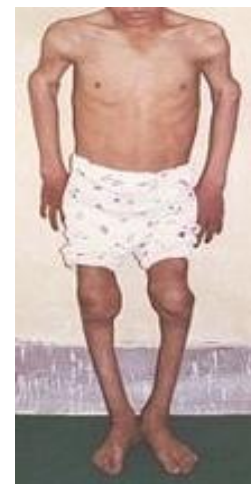


Figure 56 :
Adulte atteint de
la MKB (6)

b. Symptomatologie

La MKB est une maladie ostéo-articulaire permanente, et handicapante, touchant le cartilage de croissance et le cartilage articulaire des os longs. Les signes cliniques se manifestent dès l'âge de 5 ans et évoluent jusqu'à l'âge de 25 ans.

La maladie provoque une arthrose osseuse (218) des chevilles, des genoux, des hanches et des coudes, induisant des douleurs chroniques le plus souvent unilatérales. Surviennent ensuite des déformations articulaires entraînant une perte de mobilité chez l'individu touché (4). Une dégénérescence et une nécrose des chondrocytes (cellules cartilagineuses) apparaissent systématiquement (219). Les cas les plus sérieux sont marqués par un arrêt de croissance des quatre membres. Les patients sont atteints de nanisme et de déformations osseuses.

c. Traitement et prévention

À ce jour, le traitement de la MKB est essentiellement palliatif. Des opérations chirurgicales de correction peuvent être réalisées ainsi que des programmes de kinésithérapie, ceci afin d'alléger la douleur ressentie par le patient et d'améliorer sa mobilité.

La prévention passe par une supplémentation en compléments nutritionnels, riches en vitamines (E et C) et minéraux (sélénium), pour les enfants et familles à risque. Une décontamination des cultures céréalières est aussi mise en œuvre dans les régions les plus reculées.

2. Kwashiorkor

a. Origine et causes

Le Kwashiorkor est une forme de malnutrition protéino-énergétique sévère, qui touche exclusivement les enfants de 3 mois à 3 ans. Le terme, qui signifie « enfant rouge » dans la langue des Ashanti du Ghana, fait référence à la rougeur anormale de la peau des enfants malades. Le Kwashiorkor résulte d'une alimentation hypoprotéique, alors même que les apports caloriques peuvent être suffisants (220).

La pathologie se rencontre uniquement chez les enfants habitant des pays pauvres ou en voie de développement, aux conditions de vie précaires et au bas niveau d'éducation comme : l'Afrique tropicale et équatoriale, la Corée du Nord, l'Inde et, plus rarement, l'Amérique du Sud (220).

La maladie survient généralement au moment du sevrage. En effet, le lait maternel constitue une alimentation riche en protéine. Après le sevrage, l'alimentation des adultes, essentiellement composée de bouillie de céréales et de tubercules pauvres en protéines, ne suffit pas au développement osseux et musculaire de l'enfant. En fait, la maladie est due à un manque de certains acides aminés dits « essentiels » (qui ne peuvent pas être synthétisés par l'organisme). Ces acides aminés sont au nombre de huit : le tryptophane, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la thréonine, la valine, la leucine et l'isoleucine.

De plus, la carence en protéines est souvent associée à un apport insuffisant en minéraux (fer, zinc) et vitamines (220). Les Aflatoxines, produites par *Aspergillus parasiticus*, sont aussi incriminées car elles entretiendraient la maladie lors de l'allaitement ou du passage à l'alimentation adulte.

b. Symptomatologie

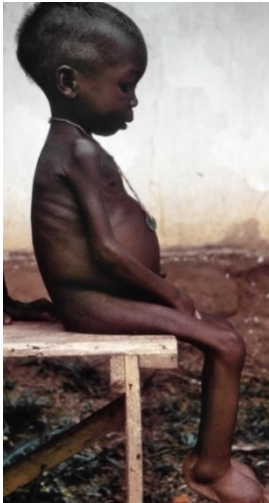


Figure 57 : Enfant atteint d'ascite (6)

La maladie se caractérise par des symptômes généraux précoces : une apathie, une anorexie, une pâleur, un œdème des membres inférieurs, une lyse musculaire, des troubles digestifs, des troubles psychomoteurs et des lésions cutanées (figure 57). Les analyses sanguines mettent en avant un déficit en albumine et une anémie qui peut être sévère.

Si la carence perdure, des signes plus spécifiques à une hypoprotéinémie apparaissent : croissance retardée voire stoppée, amaigrissement, diminution de la masse musculaire, ascite due à une insuffisance hépatique, hépatomégalie due à une stéatose, insuffisance rénale, immunodéficience, troubles mentaux...

En l'absence de traitement adéquat, l'évolution aboutit rapidement au décès de l'enfant. En effet, l'enfant fragilisé par le déficit en protéines (immunoglobulines comprises) devient très sensible aux infections opportunistes comme la tuberculose, le paludisme ou les diarrhées infectieuses (220).

c. Traitement et prise en charge

Si le traitement est précoce, l'état général de l'enfant s'améliore rapidement. En revanche, s'il est trop tardif, l'enfant peut souffrir de séquelles physiques et intellectuelles. Sans traitement le décès est inévitable (220).

Le traitement vise à réintroduire progressivement des protéines dans l'alimentation. Afin de réadapter l'organisme, les rations doivent être réduites mais fréquentes (toutes les 2 à 4 heures). L'alimentation, initialement riche en glucides, doit être enrichie progressivement en protéines et en éléments essentiels : sucre, lait, sels minéraux, vitamines. L'enfant est considéré guéri lorsque sa masse corporelle atteint 85 % de sa masse normale (220). C'est à ce moment que l'alimentation traditionnelle peut être réintroduite.

3. Quelques autres pathologies pouvant être dues à des intoxications fongiques

a. Onyalaï

L'Onyalaï est une maladie présente essentiellement en Afrique du Sud. La maladie est caractérisée par des hémorragies des muqueuses (cavité buccale, rhinopharynx, tube digestif) et, plus rarement, de la peau. Ces hémorragies peuvent provoquer un choc cardiovasculaire, puis la mort (221).

Son étiologie est inconnue, mais les toxines fongiques ont été suggérées comme facteur de risque. La pathologie se développerait suite à la consommation de millet contaminé par le champignon *Phoma sorghina*, producteur de l'acide ténuazonique (222).

Le traitement vise essentiellement à prévenir le risque hémorragique. Les corticoïdes (méthylprednisolone) ont prouvé leur effet bénéfique sur l'augmentation du taux de plaquettes. La splénectomie est requise chez les patients présentant des hémorragies sévères et incontrôlables.

b. Béribéri cardiaque

Le Béribéri est une maladie causée par un déficit en vitamine B₁, secondaire à un état de malnutrition. La Citréoviridine, produite par *Penicillium citreoviridae*, serait aussi en cause. Le Béribéri était très fréquent au Japon à la fin du 19^{ème} siècle. Il était associé à la consommation de riz moisi (223). De nos jours, ce sont les pays du « Tiers monde » qui sont les plus touchés (Sri Lanka, Est de l'Afrique).

Le Béribéri est à l'origine d'effets neurotoxiques et cardiaques. Chez l'Homme, les symptômes se traduisent par des vomissements, une grande fatigue, des convulsions, des anomalies cardiaques, une paralysie et une baisse de la température corporelle (224).

Le traitement du Béribéri consiste à réduire le déficit vitaminiq ue en administrant au patient de la vitamine B₁, d'abord par injection, puis par voie orale. La guérison est alors rapide.

c. Syndrome de Reye

Le syndrome de Reye est une pathologie rare et potentiellement mortelle qui entraîne de nombreux effets néfastes au niveau cérébral et hépatique.

Son étiologie est inconnue, mais un lien avec l'utilisation de salicylés (aspirine), chez des enfants contractant une maladie virale (oreillons, grippe, varicelle...), a été observé. Une autre explication concernerait une exposition chronique aux Aflatoxines dans les pays d'Asie du Sud-est.

La maladie se traduit par des vomissements, des signes de déshydratation, une encéphalopathie, un ictère et une hépatomégalie. La gravité de la maladie tient dans la présence, ou non, d'œdèmes cérébraux. Un décès est observé dans 30 % des cas et les survivants gardent souvent des séquelles neurologiques.

La prise en charge nécessite une hospitalisation, le traitement est alors celui de l'œdème cérébral.

Partie 4 : Moyens de lutte

I. Analyse et surveillance

A. Généralités

Dans un cadre de contrôle réglementaire, il est nécessaire de connaître les taux de toxines fongiques dans les matières premières alimentaires. Pour déterminer le niveau de contamination d'un lot, il convient de pouvoir évaluer la quantité de mycotoxines qu'il contient. Cependant, les résultats varient fréquemment d'un laboratoire à l'autre selon la toxine recherchée. En plus du respect des critères de linéarité et de sensibilité, les méthodes employées doivent proposer un niveau élevé de fiabilité, mesurable par des paramètres de fidélité (répétabilité, reproductibilité) et d'exactitude (4). De même, il est important de vérifier la concordance entre le seuil de détection d'une méthode et les teneurs maximales tolérées ou admissibles.

Par ailleurs, dans le cas d'obtention de résultats positifs supposant une contamination de l'échantillon, il convient tout de même de confirmer les résultats par des méthodes de référence, établies par un organisme officiel ou interprofessionnel, tels que l'AFNOR (Association Française de Normalisation), le CEN (Comité Européen de Normalisation) ou encore la FIL (Fédération Interprofessionnelle Laitière).

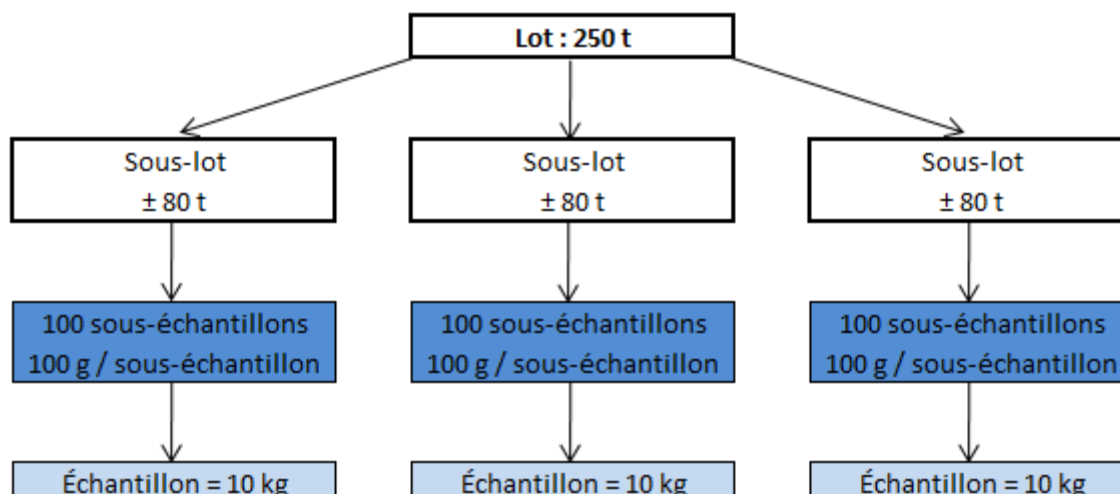
B. Échantillonnage

La détection de mycotoxines dans des aliments stockés est limitée pour plusieurs raisons :

- L'infestation n'est pas uniforme dans le stock. En effet, le développement fongique ne s'effectue pas de manière homogène dans la denrée stockée ; la moisissure prolifère préférentiellement dans les zones les plus humides.
- Les moisissures peuvent se développer dans des volumes restreints.
- La présence de moisissures ne signifie pas obligatoirement la présence de toxines.
- L'absence de signes visibles d'infestation ne signifie pas que l'aliment n'est pas contaminé par des mycotoxines.

Par conséquent, un échantillon destiné à l'analyse doit être obligatoirement composé de plusieurs prélèvements (figure 58). Ces prélèvements sont soit effectués manuellement soit par un échantillonneur automatique (225, 226).

Figure 58 : Plan d'échantillonnage pour un lot de 250 tonnes (226)



Lot : quantité identifiable d'une denrée alimentaire, livrée en un tout, et caractérisée par des données telles que : l'origine, la variété et le type d'emballage.

Sous-lot : part d'un "grand lot", en vue de lui appliquer une méthode d'échantillonnage. Chaque sous-lot doit être physiquement séparé et identifiable.

Sous-échantillon : quantité de matière prélevée à un endroit précis du lot ou du sous-lot.

Échantillon : ensemble des sous-échantillons, il est destiné à être analysé en laboratoire, il sera broyé dans sa totalité.

Les différents lots sont analysés séparément et divisés en sous-lots. Les prélèvements se font en plusieurs points dans chaque lot. Un échantillon global est ensuite constitué par mélange des différents prélèvements, divisés en sous-échantillons (226).

C. Détection et quantification des moisissures toxigènes

1. Limites

À ce jour, les techniques d'évaluation du risque lié aux toxines fongiques sont celles permettant le dosage direct des toxines. Néanmoins, lorsque la toxine est sécrétée, il est déjà trop tard. En effet, les mycotoxines étant plus difficiles à dégrader que les moisissures, les procédés décontaminants employés sont souvent susceptibles d'altérer les propriétés des aliments et matières premières (227). Il est donc primordial de pouvoir rapidement détecter des champignons toxigènes infestant des matières premières.

Plusieurs méthodes sont disponibles : la culture en boîte de Pétri, la recherche d'antigènes de surface et la quantification de l'ergostérol membranaire. Toutefois, ce sont des techniques fastidieuses et peu spécifiques.

Contrairement aux autres procédés, la *Polymerase Chain Reaction* (PCR) permet une détection rapide (de l'ordre de quelques heures) de la contamination des denrées par des mycètes potentiellement toxigènes.

2. Principe de la PCR

La « réaction de polymérisation en chaîne » est une technique de biologie moléculaire basée sur l'amplification, *in vitro*, de séquences spécifiques d'acides nucléiques (ADN ou ARN) à partir de faibles quantités d'ADN. Elle permet ainsi l'obtention d'une quantité suffisante de matériel génétique qui pourra être détecté et étudié. Pour cela, une série de réplifications d'une séquence d'ADN double-brin est répétée en boucle. Ainsi, les produits obtenus à la fin de chaque cycle servent de précurseurs pour le cycle suivant. La réaction d'amplification est donc exponentielle (6, 228).

C'est une technique couramment utilisée pour la mise en évidence du VIH, des virus de l'hépatite (B, C et D) ou pour la mesure d'une charge virale. Pour la détection de champignons microscopiques, la PCR a pour cibles les séquences d'ADN nucléaires et ribosomales, ou les séquences codant directement les mycotoxines.

3. Le déroulement de la PCR

La PCR est une technique basée sur la répétition de cycles de transition de températures. La réaction nécessite la présence de séquences d'ADN à amplifier (nommées amplicons ou *template*), de nucléotides amorces, de déoxy-nucléotides triphosphates (déoxy-adénosine triphosphate), d'une ARN-polymérase et de catalyseurs de réaction (ions magnésium Mg^{2+}). C'est un procédé relativement simple, composé de trois étapes (228, 229, figure 59) :

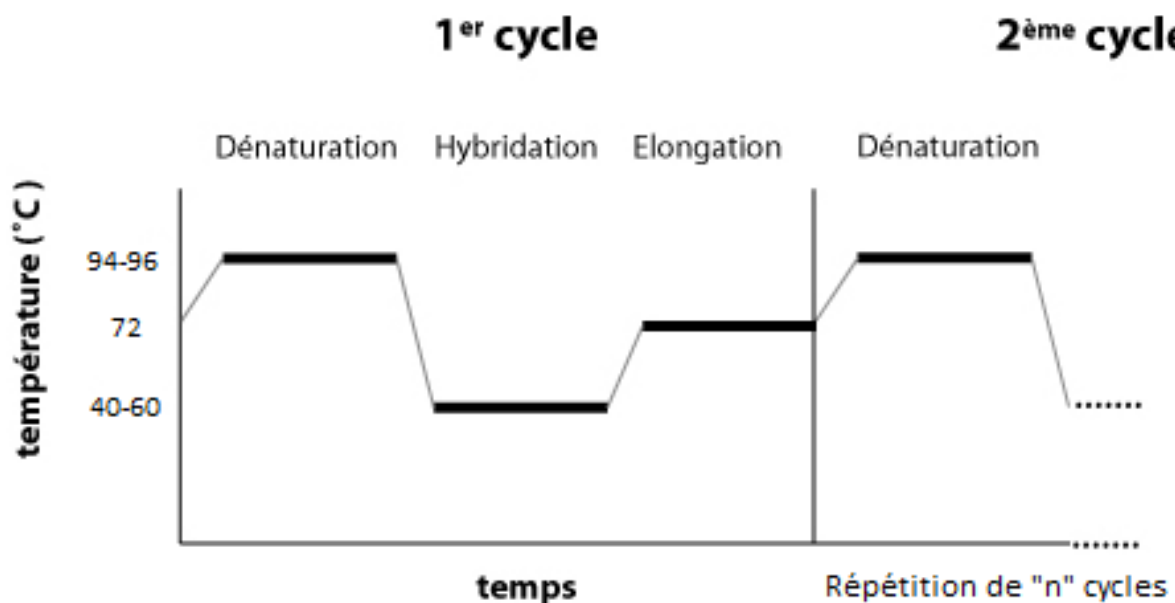


Figure 59 : Déroulement d'un cycle de PCR (229)

- **La dénaturation** s'effectue à 94-96°C, afin de permettre la dissociation de l'ADN double-brin en ADN simple-brin.
- **L'hybridation** donne lieu à l'appariement des oligonucléotides à leur site complémentaire sur la séquence cible d'ADN. Cette étape est réalisée à des températures comprises entre 40 et 60°C.
- **L'élongation** s'effectue à 72°C. L'ADN polymérase va permettre la polymérisation du brin complémentaire par ajout de déoxy-nucléotides libres. À la fin de ce cycle, on obtient des ADN double-brin.

En général, 30 à 35 cycles sont effectués lors d'une PCR classique (229).

D. Méthodes d'analyse des mycotoxines

1. Généralités

Les mycotoxines étant présentes à l'état de traces dans les aliments et matières premières étudiés, il est indispensable d'avoir recours à des méthodes d'analyse extrêmement performantes. Qu'elles soient qualitatives ou quantitatives, ces méthodes reposent le plus souvent sur le principe de séparation chromatographique, couplée à des procédés de détection comme la fluorimétrie, la spectrophotométrie ou la radiodétection (4).

Les méthodes physico-chimiques comme la « chromatographie sur couche mince » (CCM), la « chromatographie liquide à haute performance » (CLHP) et la « chromatographie liquide en phase gazeuse » (CLPG) permettent la quantification des composés. Des méthodes plus récentes et plus rapides sont fondées sur des principes immunochimiques comme le test ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*).

2. Description des méthodes physico-chimiques

a. Chromatographie sur couche mince

La CCM est une technique couramment utilisée pour séparer des composés, dans un but analytique ou de purification. Elle comprend une phase stationnaire, constituée d'une couche mince de matériel absorbant (gel de silice), qui est plongée dans une phase mobile liquide (éluant), composée d'un solvant qui va obliger les molécules à se séparer le long de la phase stationnaire. Cette méthode est fondée sur les différences d'affinité des composés vis-à-vis des deux phases (6). Elle permet la séparation et le dosage simultanés de plusieurs toxines.

b. Chromatographie liquide à haute performance

Dans ce procédé, l'échantillon à analyser est poussé par un liquide (phase mobile) à travers une colonne remplie d'une phase stationnaire de faible granulométrie. L'augmentation de la pression dans le système est due au fort débit d'écoulement de l'éluant.

La CLHP est préférée à la CCM en raison de ses bons facteurs de sensibilité, détectabilité et spécificité. En revanche, la CLHP reste la méthode chromatographique la plus coûteuse (225).

c. Chromatographie en phase gazeuse

La CPG s'applique aux composés gazeux. Le mélange à étudier est vaporisé à l'entrée d'une colonne contenant la phase stationnaire (liquide ou solide). Il est ensuite transporté à travers cette colonne à l'aide d'un gaz vecteur (phase mobile). Les différents composés du mélange vont se séparer et sortir de la colonne, les uns après les autres, suivant leur affinité avec la phase stationnaire.

La CPG est peu utilisée car elle impose de volatiliser la molécule à analyser. Cependant, elle présente l'avantage d'être aisément associée à la spectrométrie de masse, qui facilite l'identification de la molécule (225).

d. Avantages et inconvénients

La chromatographie permet de détecter spécifiquement de faibles taux de toxines fongiques. Son champ d'application est vaste ; cette méthode peut aussi bien être mise en œuvre pour l'analyse des matières premières que pour celle du produit fini. Contrairement au test ELISA, il n'y a aucune possibilité de faux négatif (toxine présente mais non détectée) ou de faux positifs (toxine absente mais obtention de résultats positifs).

Cependant son coût important, l'appareillage complexe (imposant un personnel qualifié) et la durée des analyses (délai de plusieurs jours) sont autant de paramètres qui freinent son utilisation (225, 226).

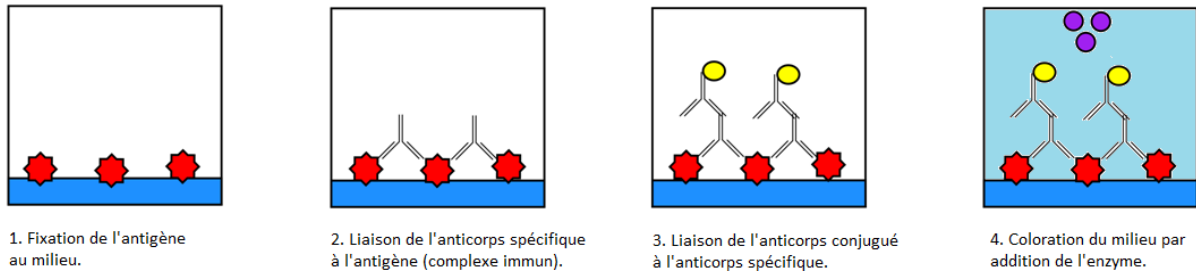
3. Méthodes immunologiques

a. Dosage immuno-enzymatique - Test ELISA

La méthode immuno-enzymatique ELISA est principalement employée en immunologie pour détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon.

Le test ELISA est une technique utilisant un ou deux anticorps (figure 60). Un de ces anticorps est spécifique de l'antigène recherché (par exemple une toxine fongique), tandis que l'autre réagit aux complexes immuns formés (complexes antigène-anticorps) et est couplé à une enzyme. Cette enzyme permet de catalyser une réaction qui libère un substrat chromogène ou fluorogène, capable de colorer le milieu. Cette coloration, proportionnelle à la quantité de toxines contenues dans l'échantillon, pourra ensuite être appréciée par fluorimétrie ou colorimétrie.

Figure 60 : Les différentes étapes du test ELISA



C'est un outil efficace, fréquemment utilisé pour déterminer des concentrations sériques d'anticorps (VIH). Il a également des applications dans l'industrie alimentaire, dans la détection d'allergènes comme les œufs, les arachides, etc (225).

b. Avantages et inconvénients

Le test ELISA est une méthode rapide, peu coûteuse et présentant une bonne sensibilité. De plus, les résultats du dosage sont obtenus après un court délai de quelques heures (3 à 24 heures).

En revanche, elle ne permet pas d'évaluer une contamination multiple car elle ne peut permettre le dosage que d'une seule toxine à la fois. Bien que ce soit une méthode fiable, le risque de résultats faux positifs demeure non négligeable (225).

E. Analyse des biomarqueurs d'exposition chez l'Homme

a. Définition

Un biomarqueur, terme dérivé de l'Anglais « *Biological Marker* », peut être défini comme : « une mesure effectuée sur un tissu, un fluide, ou un excréta, qui fournit une indication quantitative quant à l'exposition à un produit chimique, et qui peut permettre d'estimer les risques inhérents à cette exposition » (230). C'est un paramètre biologique (protéines, ADN...) qui sert d'indicateur à un processus biologique normal ou pathologique.

D'un point de vue médical, le recours aux biomarqueurs peut permettre le dépistage de maladies, le diagnostic de maladies, et l'évaluation de la tolérance ou de la réponse à un traitement. Les biomarqueurs sont surtout utilisés dans le domaine de l'oncologie afin de diagnostiquer et d'identifier le type de tumeur.

Seuls les biomarqueurs d'exposition aux Aflatoxines, Ochratoxines et Fumonisines seront développés, car ce sont les seuls groupes de toxines qui ont fait l'objet de recherches chez l'Homme.

b. Aflatoxines

Les métabolites de l'AFB₁ (AFM₁, AFQ₁), les adduits de l'AFB₁ à l'albumine sérique, les adduits urinaires de l'AFB₁ à l'ADN, et l'AFM₁ dans le lait maternel sont utilisés comme biomarqueurs d'exposition de l'Homme aux Aflatoxines. (76).

La mesure d'adduits à l'ADN dans les urines met en évidence l'initiation d'un processus de réparation du génome, consécutif de son altération. Il peut être employé comme indicateur quantitatif d'exposition. Cependant, ce type d'analyses demeure difficile à mettre en œuvre, mais permet de compléter le dosage de l'AFM₁ excrété dans le lait (70).

c. Ochratoxines

Ce sont les concentrations sériques et urinaires de l'OTA qui sont utilisées pour l'évaluation de l'exposition humaine à cette toxine. Les différents métabolites de l'OTA sont aussi détectables dans les urines et le lait maternel (exposition possible du nourrisson).

Néanmoins, leur évaluation est rendue difficile car il n'existe pas de corrélation directe entre la concentration sérique, ou urinaire, d'OTA et la quantité ingérée. De plus, on ne connaît pas avec certitude l'importance des variabilités interindividuelles et intra-individuelles. En raison de ces incertitudes, on parle « d'indicateur d'exposition » et non de biomarqueurs (70).

d. Fumonisines

L'analyse des biomarqueurs d'exposition aux Fumonisines est basée sur le mode d'action toxique de ces composés. Comme développé précédemment, les Fumonisines interviennent dans la biosynthèse des sphingolipides, par inhibition de la N-acétyltransférase. Les taux de Sphinganine et Sphingosine, mesurés dans les urines ou dans le sang, ont été définis comme biomarqueurs d'exposition. Plus précisément, c'est le rapport Sphinganine/Sphingosine (Sa/So) qui sert de biomarqueur (4, 76).

Toutefois, des facteurs environnementaux et génétiques peuvent influencer ces paramètres chez un individu donné. Actuellement, il n'existe aucun biomarqueur d'exposition aux Fumonisines validé chez l'Homme (76).

II. Procédés mis en œuvre dans la lutte contre les mycotoxines

A. Rappels

Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, les récoltes contaminées par les mycotoxines représenteraient un quart de la production totale du Globe (4). À l'heure où la production de denrées agricoles n'est pas suffisante pour subvenir aux besoins de l'ensemble de la population mondiale, le choix de la destruction des aliments contaminés n'est pas évident.

La mise en œuvre de techniques industrielles de détoxification est donc essentielle pour maintenir au mieux l'approvisionnement mondial en produits alimentaires.

Il n'existe pas de solution unique dans la lutte contre les mycotoxines. Il est important de prendre en compte diverses stratégies pour réduire et contrôler le taux de mycotoxines dans les produits agro-alimentaires. Le meilleur moyen pour éviter la contamination en toxines réside dans la prévention de l'apparition des moisissures lors des étapes précédant la transformation du produit alimentaire. Comme nous avons pu le constater auparavant, les moisissures sont des micro-organismes omniprésents dans l'environnement, aussi bien intérieur qu'extérieur. Elles se développent lorsque certaines conditions environnementales sont réunies : humidité suffisante, température optimale, composition gazeuse, composition du substrat (présence de carbone, azote et oxygène)... Les méthodes de lutte développées reposent principalement sur la modification des paramètres propices à la prolifération fongique, mais aussi sur le respect des bonnes pratiques de culture, de récolte et de stockage. Selon le type de moisissures (de champs ou de stockage), il convient de différencier les méthodes de lutte en fonction du lieu d'origine de la croissance fongique.

Cependant, hormis les allergies et les infections opportunistes se manifestant chez les immunodéprimés, les micromycètes ne représentent pas un danger réel pour la santé humaine. Le problème sanitaire réside plutôt dans la production de toxines par ces moisissures. Les procédés de détoxification des aliments contaminés par des toxines fongiques nécessitent la mise au point de stratégies efficaces de réduction de leurs taux dans la production agricole. Pour être efficaces, ces procédés doivent remplir plusieurs conditions (4, 231) :

- Inactiver, détruire ou éliminer la toxine.
- Ne pas aboutir à la formation de résidus toxiques.
- Préserver les qualités nutritionnelles et organoleptiques des denrées.
- Ne pas modifier les propriétés technologiques du produit.
- Si possible permettre la destruction des spores.

La diminution de l'impact des intoxications alimentaires passe également par la maîtrise de toutes les étapes de la transformation industrielle (chaîne alimentaire), de la distribution, ainsi que par le respect des règles d'hygiène, de conservation et de consommation.

B. Lutte contre la croissance fongique

1. Avant la récolte

a. Choix du cultivar

La lutte contre l'apparition de moisissures au champ repose sur le choix de la variété de la plante cultivée. Période de floraison, vitesse de floraison, hauteur des tiges, résistance naturelle aux micromycètes, et adaptation aux conditions climatiques sont autant de facteurs permettant de prévenir une contamination fongique au champ.

En effet, les cultivars arrivant rapidement à maturité permettront une récolte plus rapide. Cette récolte aura pour conséquence de diminuer l'humidité des grains, ainsi que d'éviter la progression d'une éventuelle maladie et une trop importante production de toxines. La variété de seigle *Gazelle* est par exemple moins contaminée par *Claviceps spp*, du fait de sa floraison rapide qui survient au printemps (232).

D'autre part, certaines variétés présentent des résistances naturelles vis-à-vis des moisissures de champs. Ces résistantes s'expriment de différentes façons :

- Résistance à l'infestation par le champignon.
- Résistance à la propagation de la maladie : dans ce cas, la maladie reste localisée.
- Dégradation des toxines, évitant ainsi leur accumulation dans la plante.

Il convient de citer en exemple les variétés de blé *Fundulea* et d'orge *Winthrop* qui sont des cultivars résistants au micromycètes du genre *Fusarium* (225).

b. Modifications génétiques

Elles permettent d'obtenir ou de sélectionner des plantes naturellement résistantes aux maladies fongiques, on parle alors d'Organismes Génétiquement Modifiés (OGM). Ces manipulations génétiques ont surtout pour ambition de modifier les gènes codant les enzymes impliquées dans la dégradation des parois cellulaires des champignons, à savoir les chitinases et glucanases.

Le second intérêt des manipulations génétiques est de permettre l'obtention de plantes résistantes aux insectes nuisibles. Le but est de diminuer les dommages engendrés par les nuisibles. En effet, les lésions créées par les insectes sont l'un des facteurs favorisant l'introduction et la croissance fongiques dans les grains. Le maïs Bt est un OGM obtenu par addition à son génome d'un gène, nommé *cry1Ab*, tiré du patrimoine génétique d'une bactérie : *Bacillus thuringiensis* (Bt). Ce gène code pour une protéine cristalline, toxique envers certains lépidoptères nuisibles (pyrales). Ces maïs Bt présenteraient des taux moins importants de Fumonisines que les maïs non Bt. Le genre *Fusarium* serait le plus atteint par cette manipulation. En ce qui concerne les Aflatoxines produites par *Aspergillus spp*, les résultats sont plus contrastés (232, 233).

c. Utilisation de fongicides

Il est également possible d'avoir recours à des traitements fongicides pour prévenir l'apparition de moisissures. Toutefois, leur utilisation est délicate et leurs résultats aléatoires. En effet, les champignons vivant en symbiose avec la plante, la disparition d'une moisissure peut permettre le développement d'une autre moisissure insensible au fongicide utilisé.

Par exemple : les *Fusaria* sont les micromycètes les plus ciblés par les fongicides, car les plus présents dans les cultures avant la récolte. Les pesticides les plus efficaces contre *Fusarium spp* sont les Triazoles, comme le Tébuconazole ou le Metconazole. *Microdochium nivale* est quant à lui contrôlé par les composés de la famille des Strobilurines (Azostrobine). Lorsque qu'une culture est traitée contre *M. nivale* à l'aide de Strobilurines, ce dernier laisse alors place aux autres *Fusaria* toxigènes non contrôlés par ces composés (225).

La bonne utilisation des fongicides passe donc par l'alternance, l'association et la diversification des composés employés. Leur utilisation doit avoir lieu entre l'épiaison et la floraison de la plante. Par ailleurs, aucun fongicide ne permet une éradication totale du champignon.

L'étroitesse de l'intervalle d'action des fongicides, leur efficacité relative, le rapport nocivité/bénéfice et leur coût font que les traitements fongicides ne sont pas toujours rentables par rapport à la perte de rendement imputable à l'infestation fongique (225).

d. Utilisation de souches fongiques moins toxigènes

Le principe est de combattre « le mal par le mal », en favorisant la compétition entre les moisissures de champs et d'autres micro-organismes peu, voire non toxigènes. Ces derniers, introduits dans le sol, vont pouvoir se développer grâce aux nutriments présents, au détriment des moisissures toxigènes. On parle de phénomène d'exclusion compétitive.

Aux États-Unis, le procédé est mis en œuvre en inoculant des souches d'*Aspergillus flavus* et d'*Aspergillus parasiticus* dans des champs de coton et d'arachide. Une baisse significative des teneurs en Aflatoxines a été observée par rapport aux champs témoins non traités. Ces souches, labellisées biopesticides, prolongeraient aussi leur action au stockage (234).

D'autres tests ont été réalisés sur la production d'Ergotamine et d'Acide lysergique par *Claviceps purpurea*. L'introduction de la souche *Sambucinum* de *Fusarium roseum* dans une culture de seigle a permis de rendre inactives, biologiquement et neurologiquement, les deux toxines (225).

Il est possible d'optimiser la lutte contre la prolifération fongique en associant ces souches à des fongicides auxquels elles sont insensibles (234).

e. Bonnes pratiques culturales

i. Traitements des semences

Certains procédés thermiques ont fait leur preuve. Le traitement des grains de blé à la chaleur (5 jours à 80°C) permet de détruire *Fusarium graminearum*, sans pour autant altérer les capacités de germination des grains (225).

D'autres méthodes mettent en œuvre des techniques mécaniques de séparation des grains sains des grains contaminés comme l'utilisation de tamis, la séparation par gravité et la flottation dans des solutions de chlorure de sodium à 20 %. Ces techniques sont surtout utilisées pour l'élimination des sclérotés de l'ergot dont l'aspect macroscopique est un avantage (211).

En ce qui concerne les traitements fongicides des semences de blé, ils ont aussi prouvé leur efficacité dans la lutte contre les sclérotés de *Claviceps spp.*

ii. Période de semaison - Choix de la date des semis

Pour le maïs, le choix de la date des semis (et de la récolte) doit être le plus précoce possible. Il est nécessaire de prédire la période de floraison (phase la plus sensible à la contamination) afin d'esquiver le stress causé par les périodes de chaleur et de pluies, tels que les mois de juin et juillet (235).

iii. Cultures intercalaires

De bons résultats ont été remarqués en semant du trèfle entre les rangs de semis de céréales : le trèfle empêcherait les spores de *Fusarium* d'atteindre les épis (236).

iv. Rotation des cultures - Assolement

L'assolement est une technique culturale qui consiste à alterner, sur plusieurs années et sur plusieurs parcelles cultivables (soles), différentes cultures (légumineuses, céréales...) en fonction de leurs besoins spécifiques (figure 61). La rotation peut ainsi être biennale, triennale ou quadriennale.

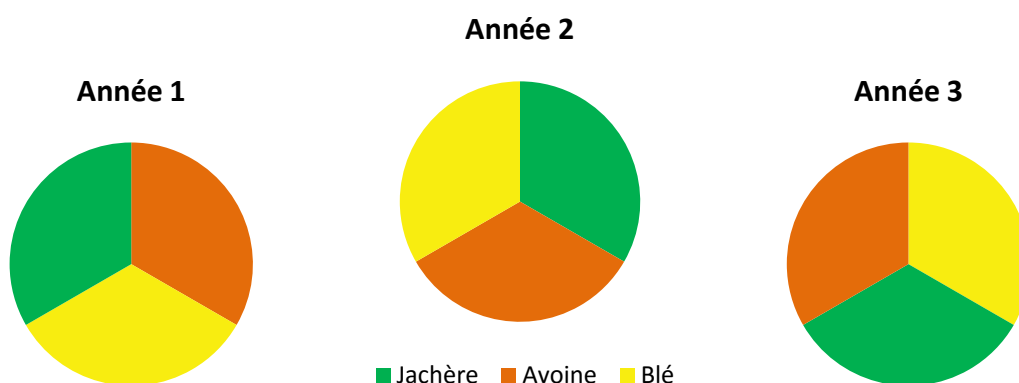


Figure 61 : Exemple de rotation triennale des cultures

Cette technique a plusieurs avantages :

- Elle rompt le cycle de vie des organismes nuisibles.
- Elle rompt le cycle de développement des plantes adventices (« mauvaises herbes »).
- Elle permet d'alterner l'utilisation des fongicides, herbicides et insecticides, réduisant ainsi le risque d'apparition de résistances.
- Elle maintient, ou améliore, la qualité et la composition du sol.

Ainsi les cultures de betteraves, légumineuses et tournesol sont à privilégier avant la culture de blé pour réduire l'incidence des cas de fusarioses. Néanmoins, la rotation peut avoir des effets paradoxaux sur la culture des céréales à paille. En effet, les cultures précédentes de maïs et de sorgho augmentent le risque de fusarioses sur le blé, alors qu'elles sont recommandées pour prévenir l'apparition de *Claviceps spp* (235).

v. *Gestion des résidus*

Pour empêcher la contamination des cultures suivantes, il convient d'éliminer les résidus des végétaux récoltés.

Le **labour** est la méthode la plus couramment utilisée. Elle permet l'enfouissement des débris (à 10 ou 30 centimètres de la surface), limitant ainsi leur contact avec les futurs végétaux cultivés. Toutefois, comme la décomposition est restreinte, les débris peuvent remonter à la surface au moment du labour de l'année suivante. C'est une méthode qui a démontré son efficacité pour lutter contre les sclérotés de *Claviceps spp* et pour limiter les fusarioses du blé.

La méthode du **brûlage** est une technique de régénération des sols qui consiste à détruire par le feu les éventuels résidus de végétaux cultivés ou de végétaux adventices (destruction des sclérotés). Pour des raisons évidentes, c'est une méthode très réglementée et peu utilisée en France (211).

vi. *Irrigation - Fertilisation du sol*

La fertilisation du milieu de culture, via les engrais, permet un apport en minéraux (N, C, O, P, K...) indispensables au bon développement de la plante. Une irrigation et une nutrition minérale adaptées assurent une protection optimale contre les situations de stress que subit la plante (insectes, sécheresse...). L'irrigation reste le meilleur moyen pour la plante de se prémunir contre les attaques d'*Aspergilli*, qui affectionnent particulièrement les temps chauds et secs (235).

vii. *Gestion des ravageurs ou nuisibles*

On entend par ravageur tout organisme animal (oiseaux, rongeurs, insectes...) susceptible de s'attaquer aux plantes cultivées ou aux récoltes stockées, et entraînant un préjudice économique. Leur présence au champ peut être à l'origine de blessures infligées aux plantes, facteurs favorisant la croissance fongique. La réduction des pertes agricoles s'appuie donc également sur la lutte contre ces nuisibles. Elle est fondée sur l'usage de pièges, de filets à arbres fruitiers, de canons agricoles ou encore d'insecticides.

2. Pendant la récolte

Le choix de **la période de récolte** est primordial. Elle doit être effectuée le plus tôt possible lors des périodes pluvieuses, de manière à éviter une éventuelle apparition de *Fusaria* qui se développent assez rapidement dans des conditions de forte humidité. Par ailleurs, la récolte devra être réalisée à maturité ou à prématurité afin de maintenir la récolte sèche. Ainsi, le meilleur moment pour la récolte de blé survient lorsque les grains contiennent entre 14 et 19 % d'humidité (236).

Du reste, un **réglage correct** des machines permet d'épargner l'intégrité des grains récoltés. Il est conseillé de régler les moissonneuses-batteuses de façon à éliminer, par ventilation, les grains contaminés qui sont moins denses et plus légers que les grains sains. En revanche, ce procédé contribue à la contamination du champ. De plus, le **nettoyage des machines** limite la contamination du grain par les insectes et moisissures (235).

3. Après la récolte

a. Triage

Dans un premier temps, il est recommandé de **nettoyer** les grains récoltés avant la phase de stockage. Un lavage à l'eau permet d'éliminer grossièrement les débris de moisissures et les mycotoxines. Le nettoyage peut être complété par des **méthodes de séparation** des grains et corps étrangers divers (cailloux, terre, insectes...). La séparation (234) peut être manuelle (maïs au Népal) ou mécanisée (arachide aux États-Unis). Pour cette dernière, l'opération est basée sur la différence de taille et de densité des débris (tamisage). Ces procédés sont généralement non-invasifs ; ils ne changent ni l'aspect ni la valeur nutritionnelle des produits manipulés.

b. Séchage

C'est une étape primordiale pour lutter contre les micromycètes. Le but est de maintenir un faible taux d'humidité dans les produits récoltés. Pour le blé, la teneur en eau doit être inférieure à 14 % (236).

L'étape de séchage est réalisée soit par ventilation sèche soit par ventilation de refroidissement, ce qui permet le ralentissement de la croissance des organismes fongiques. L'étape du séchage s'effectue à l'aide de séchoirs munis de ventilateurs. Cette étape peut être complétée par une maîtrise de l'atmosphère de séchage. Ainsi, une diminution des taux d'oxygène et d'azote, et une augmentation du taux de dioxyde de carbone auront pour conséquence un arrêt de la croissance fongique.

c. Stockage

Un bon stockage passe par le maintien d'une faible température ainsi que d'une faible humidité, impropres au cycle de vie de la plupart des moisissures et insectes. Comme pour le séchage, le stockage sous atmosphère contrôlée permet de réduire le développement des moisissures.

Les récoltes peuvent être stockées de deux manières :

- Dans des sacs, à l'air libre, ou entreposés à l'abri des conditions climatiques.
- En vrac dans des silos ou des cellules, préalablement nettoyés et désinfectés. Les silos doivent être étanches à l'humidité extérieure, et ventilés.

Des traitements antifongiques et des agents conservateurs peuvent être utilisés à ce stade, comme les acides organiques (acétique, propionique, benzoïque). De par leur activité biostatique, ils n'ont d'action que sur les moisissures et non sur les toxines fongiques (225).

4. À la transformation par les industriels

a. Traitements thermiques

i. *Par la chaleur*

Le traitement des aliments par la chaleur est la technique de conservation de longue durée la plus efficace et la plus utilisée. Les traitements thermiques industriels sont efficaces essentiellement sur les germes (bactéries, virus, mycètes), et ont peu d'effets sur les toxines fongiques en raison de leur thermorésistance.

- **La pasteurisation** consiste à chauffer pendant quelques minutes le produit à une température inférieure à 100°C (généralement 70°C à 80°C), puis à le refroidir subitement. Ce processus ne détruit pas tous les germes, seulement les formes non sporulées. C'est pourquoi il convient de conserver le produit au frais (+4°C) afin de ralentir la croissance des germes. La pasteurisation ne détériore pas les qualités organoleptiques du produit et améliore sa durée de conservation. Cette technique concerne les aliments comme le lait, les jus de fruits, les produits laitiers, la bière... La pasteurisation confère une date limite de consommation (DLC) aux aliments (6, 237).
- **La Stérilisation - Appertisation** : la stérilisation soumet les aliments à des températures supérieures à 100°C. Elle a pour vocation de détruire l'ensemble des micro-organismes, y compris les spores. L'appertisation consiste à stériliser, à environ 120°C, des denrées périssables dans des contenants hermétiquement clos (mise en conserve). Les températures étant élevées, les qualités organoleptiques des aliments sont susceptibles d'être altérées. Les produits stérilisés possèdent une date limite d'utilisation optimale (DLUO). Consommer les aliments au-delà de cette date ne constitue pas un danger, mais les qualités nutritionnelles du produit seront alors appauvries. Cette pratique s'applique surtout aux légumes, viandes et fruits de mer (6, 237).

- **Le traitement à ultra haute température (UHT)** : ce processus consiste à soumettre instantanément le produit à une très forte température, de l'ordre de 150°C, pendant 2 à 5 secondes. Le produit est ensuite refroidi et conditionné aseptiquement. La courte durée du traitement UHT s'explique par la volonté de ne pas altérer les qualités organoleptiques et nutritionnelles du produit. Il est surtout utilisé pour le conditionnement du lait (6, 237).

ii. Par le froid

La conservation par le froid ne permet pas de détruire les micro-organismes contaminant les aliments, mais plutôt de ralentir leur croissance et donc la toxigenèse.

- **La congélation** consiste à stocker les aliments à des températures inférieures au point de congélation (-18°C). Elle permet une conservation à long terme des aliments (jusqu'à deux ans). L'activité métabolique des germes est fortement ralentie et l'eau, rendue solide, n'est plus disponible pour les réactions biochimiques (237).
- **La surgélation** est semblable à la congélation. La température est cependant plus rapidement abaissée, afin de prévenir la formation de gros cristaux de glace, susceptibles de détériorer la qualité de l'aliment (237).
- **Pour la réfrigération**, les aliments sont conservés à des températures comprises entre 0°C et +4°C. Cette méthode permet une conservation à court terme des denrées périssables. Les DLC vont de quelques jours (viandes) à plusieurs semaines (produits laitiers).

b. Atmosphères contrôlées

- **La pascalisation** est une technique de conservation qui propose une alternative intéressante aux traitements thermiques. Elle est adaptée aux aliments sensibles à la chaleur. Elle soumet, pendant 2 à 5 minutes, le produit à des pressions intenses de l'ordre de 4 000 à 10 000 bars (soit 4 000 à 10 000 fois la pression atmosphérique). Ces fortes pressions permettent l'éradication de tous les agents pathogènes. Cependant, elle ne concerne que les aliments emballés dans des conditionnements souples, en mesure de transmettre la modification de pression au contenu. Parmi les produits traités, on retrouve les jus de fruits, les sauces, les plats cuisinés, etc (237).
- **Le conditionnement sous vide** rallonge la durée de conservation du produit en le plaçant dans un emballage hermétique, pauvre en O₂. L'appauvrissement en O₂ empêche la prolifération des germes aérobies et donc la dégradation de l'aliment.
- **Le conditionnement sous atmosphère modifiée** consiste à modifier la composition gazeuse de l'atmosphère de conditionnement. Généralement, cette technique tend vers une diminution du taux d'O₂ et un enrichissement en azote et CO₂, qui, transformé en CO devient légèrement bactéricide.

c. Élimination de l'eau

- **Le séchage** est une technique peu agressive et peu coûteuse qui consiste à éliminer, partiellement ou totalement, l'eau contenue dans le produit, et ceci afin d'éviter ou de réduire le développement des micro-organismes. Le séchage concerne de nombreuses denrées comme les fruits, les légumes, les plantes aromatiques, les champignons et les viandes. Ce procédé est réalisé à l'aide de séchoirs ou de fours.
- **La lyophilisation** se fait par dessiccation sous vide du produit préalablement congelé. L'eau est éliminée par sublimation. Ce procédé permet de conserver les qualités du produit ainsi traité, qui retrouvera son aspect une fois réhydraté. Les produits lyophilisés ne présentent pas de DLC mais une DLUO.
- **Le salage** est une méthode de conservation qui s'effectue soit à sec, soit en solution saline (saumure). La salaison est surtout pratiquée pour la conservation des viandes et charcuteries.

d. Utilisation de conservateurs

Les conservateurs sont des additifs alimentaires dont l'adjonction aux aliments permet un allongement de la durée de conservation. Bien qu'ils contribuent à améliorer la sécurité alimentaire, leur utilisation reste controversée. Ils sont de plusieurs types :

- **Les conservateurs organiques** : acides gras (acide benzoïque, acide citrique, acide sorbique...) et leurs sels. Ils sont caractérisés par un pouvoir antifongique et antimicrobien. On les retrouve dans les boissons sans alcool, les fruits confits, les sauces, etc.
- **Les conservateurs minéraux** : nitrates, nitrites, sulfites, peroxyde d'hydrogène, etc. Ils sont notamment utilisés pour la conservation des fromages, vins et fruits secs.

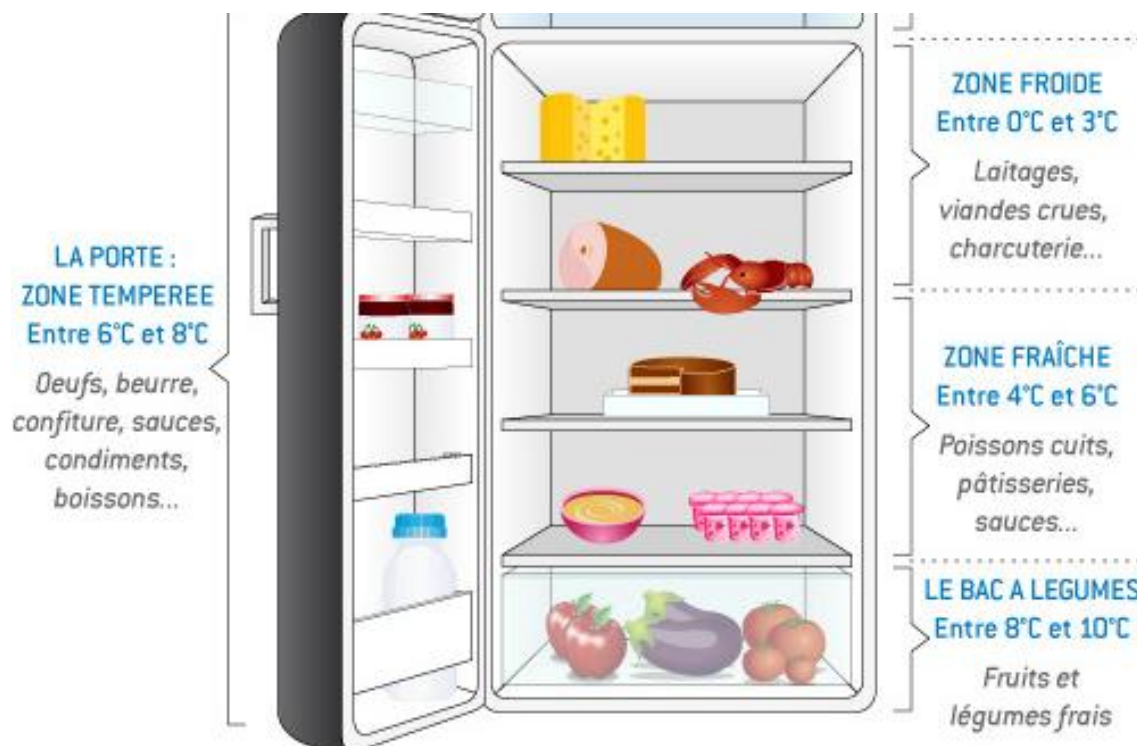
Dans une moindre mesure, les graisses et le sucre peuvent aussi être employés comme conservateurs. Le sucre, tout comme le sel, possède un pouvoir dépressur de l'activité de l'eau. Sa capacité hygroscopique, moins intense que celle du sel, lui vaut d'être utilisé comme bactériostatique dans les confitures et sirops.

5. Mesures sanitaires à respecter par le consommateur

Les intoxications alimentaires résultent souvent d'une mauvaise maîtrise des règles d'hygiène. Il convient donc de respecter certaines règles élémentaires :

- Lavage des mains avant la manipulation des aliments.
- Respect des DLC et des DLUO.
- Respect de la chaîne du froid.
- Les denrées très périssables (viandes, poissons) doivent être conservées entre 0 et +4°C, et consommées dans les 4 jours suivant leur achat.
- Maîtrise du rangement et de l'entretien du réfrigérateur (figure 62).

Figure 62 : Rangement idéal du réfrigérateur



- Ne pas recongeler un produit décongelé.
- Veiller à la propreté du plan de travail et des ustensiles de cuisine.
- Cuire suffisamment les aliments.
- Conserver séparément les aliments crus et ceux prêts à être consommés.
- Nettoyer les fruits et les légumes avant de les consommer.
- Éviter de consommer les fruits et légumes présentant des moisissures, même après les avoir débarrassés des parties abîmées.

C. Méthodes de détoxification ou de décontamination des aliments

1. Traitements chimiques

Les méthodes chimiques ont à l'origine été développées surtout pour lutter contre les Aflatoxines. Utilisées seules, elles ne sont pas suffisamment efficaces. Elles ne sont que complémentaires des bonnes pratiques de culture et de stockage, ainsi que des méthodes de décontamination physiques. Elles sont principalement mises en œuvre, après la récolte, dans la décontamination des denrées destinées à l'alimentation animale.

L'ammonisation ou ammoniation est le procédé le plus utilisé pour la détoxification des denrées contaminées (en particulier le maïs) par les Aflatoxines et les Fumonisines, notamment la FB₁. Son effet est potentialisé par les hautes températures et hautes pressions (4). Il existe de nombreux autres procédés de décontamination chimique faisant intervenir des réactions acido-basiques (soude), d'oxydation (ozone, peroxyde d'hydrogène), de réduction (bisulfites), etc (4).

2. Traitements physiques

a. Irradiation - Ionisation

L'irradiation consiste à soumettre l'aliment à des rayonnements ionisants (faisceaux d'électrons, rayons γ) dans le but de dénaturer les toxines et micro-organismes qu'il contient. Bien qu'elle améliore nettement la durée de conservation, elle a comme inconvénient majeur de détruire les nutriments et vitamines contenus dans les denrées. Par ailleurs, c'est une méthode controversée à cause de la création de radicaux libres qu'elle implique (les radicaux libres, ou DRO, sont soupçonnés être cancérigènes et accélérateurs du vieillissement cellulaire).

b. Inactivation thermique

En raison de la thermorésistance des mycotoxines, les procédés thermiques ne suffisent pas à les détruire totalement. La désactivation thermique peut être améliorée par l'ajout d'éléments permettant la dégradation chimique d'une toxine, ou par la modification de certains facteurs tels que le pH et l'humidité (4). Le traitement par la chaleur est surtout efficace sur la prolifération fongique, mais peu sur les mycotoxines. Par exemple : pour diminuer de 76 % le taux d'OTA contenue dans de la farine blanche, celle-ci doit être soumise pendant 40 minutes à une température de 250°C (238). L'OTA résiste donc très bien à la cuisson du pain.

c. Adsorption

C'est une technique qui consiste à incorporer des agents adsorbants dans les rations alimentaires des animaux, suspectées d'être contaminées. Ce sont des composés inertes d'un point de vue nutritionnel et chimique. Ils agissent en fixant et en séquestrant les mycotoxines dans la lumière intestinale, réduisant par conséquent leur biodisponibilité. Ils sont surtout utilisés dans l'alimentation des bovins, porcins et volailles. Il en existe plusieurs types (239, 240) :

- **Les argiles simples** sont des adsorbants minéraux non spécifiques. En font partie, les bentonites, la zéolite ou encore le kaolin. La bentonite serait efficace sur les AF et la Toxine T-2.
- **Les argiles complexes** sont particulièrement actives sur les Aflatoxines, et inopérantes sur les TCT. Les aluminosilicates sont les chefs de file de ce groupe.
- **Le charbon actif** est utilisé pour la décontamination des AF, de la Patuline et de la Toxine T-2.
- **Les résines échangeuses d'ions** sont intéressantes pour les AF, la ZEA, la Toxine T-2 et l'OTA.

Mais par leur manque de sélectivité, les charbons et argiles sont à même de réduire aussi les fractions biodisponibles de nutriments, minéraux et vitamines.

3. Traitements biologiques

La décontamination biologique est la transformation enzymatique des mycotoxines en métabolites moins toxiques, par l'intermédiaire de nombreux micro-organismes (levures, champignons, bactéries). Ainsi, il a été observé que des souches de *Bacillus* et de *Lactobacillus* étaient en mesure de détoxifier partiellement les aliments contaminés par l'OTA (241). En ce qui concerne la fermentation, le procédé permettrait de décontaminer la bière (malt) en AFB1 à hauteur de 80 à 82 % (242).

Conclusion

Les mycotoxines sont des composés issus du métabolisme secondaire des moisissures et sont dotées d'un potentiel toxique réel à l'égard de l'Homme et de l'animal. Les toxines fongiques se retrouvent à l'état de contaminants naturels dans de nombreuses denrées destinées à l'alimentation animale et humaine telles que les céréales, les abats, les fruits, les légumes, les fourrages et les produits laitiers. Les familles de mycotoxines considérées comme importantes d'un point de vue alimentaire et sanitaire sont les Aflatoxines, les Fumonisines, les Ochratoxines, les alcaloïdes de l'ergot du seigle, la Zéaralénone, la Patuline et les Trichothécènes. Ces toxines sont essentiellement produites par cinq genres de champignons : *Fusarium*, *Aspergillus*, *Claviceps*, *Alternaria* et *Penicillium*.

Les moisissures sont des organismes ubiquitaires, susceptibles de se développer à tous les stades de la production agro-alimentaire ; que ce soit aux champs, au moment du stockage ou lors de la transformation. Du champ jusqu'à l'assiette du consommateur, de nombreux champignons sont susceptibles de se développer et de sécréter des toxines fongiques, si un certain nombre de conditions sont réunies (conditions météorologiques favorables, composition idéale du milieu de croissance, présence d'insectes et de rongeurs...).

Hormis leur impact économique pour les éleveurs, les agriculteurs et l'industrie agro-alimentaire, les mycotoxines représentent un réel danger pour la santé humaine et animale, de par leur responsabilité dans l'apparition de phénomènes de toxicité aiguë et chronique. Leurs effets sont insidieux et difficilement quantifiables : cancérogénèse (Aflatoxines), hépatotoxicité, néphrotoxicité (Ochratoxines), immunotoxicité (Patuline), hématotoxicité (Trichothécènes), neurotoxicité (Fumonisines), tératogénèse, génotoxicité... Cependant, la présence de toxines et de champignons dans les aliments est aléatoire et rend délicate l'évaluation du risque mycotoxique, posant ainsi un problème de sécurité alimentaire.

Devant ce constat, il est nécessaire de mettre en place des moyens de lutte et de prévention tout au long de la chaîne alimentaire, comprenant des stratégies agronomiques (bonnes pratiques culturales, traitements fongicides réfléchis, choix des variétés cultivées...), ainsi que l'amélioration des conditions de récolte, de stockage et de transformation. La prévention passe donc par une sensibilisation des différents acteurs des professions de l'industrie l'agro-alimentaire (éleveurs, agriculteurs...), mais aussi par l'information et l'éducation du consommateur.

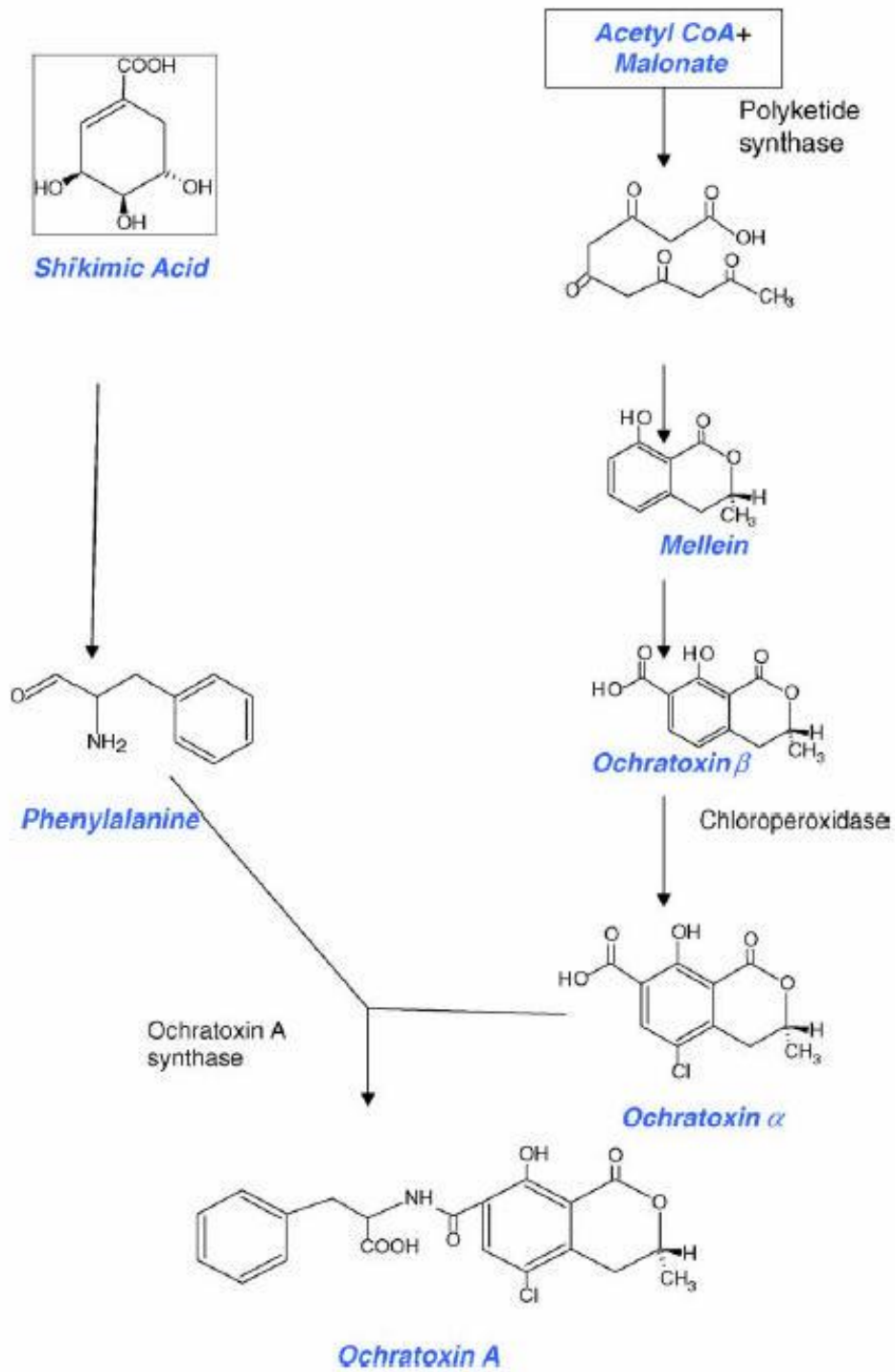
Par ailleurs, la mise en place de réglementations européennes et mondiales, ainsi que l'amélioration de la compréhension des effets toxiques et des modes d'action des mycotoxines représentent un axe important dans la lutte contre leur prolifération.

Annexes

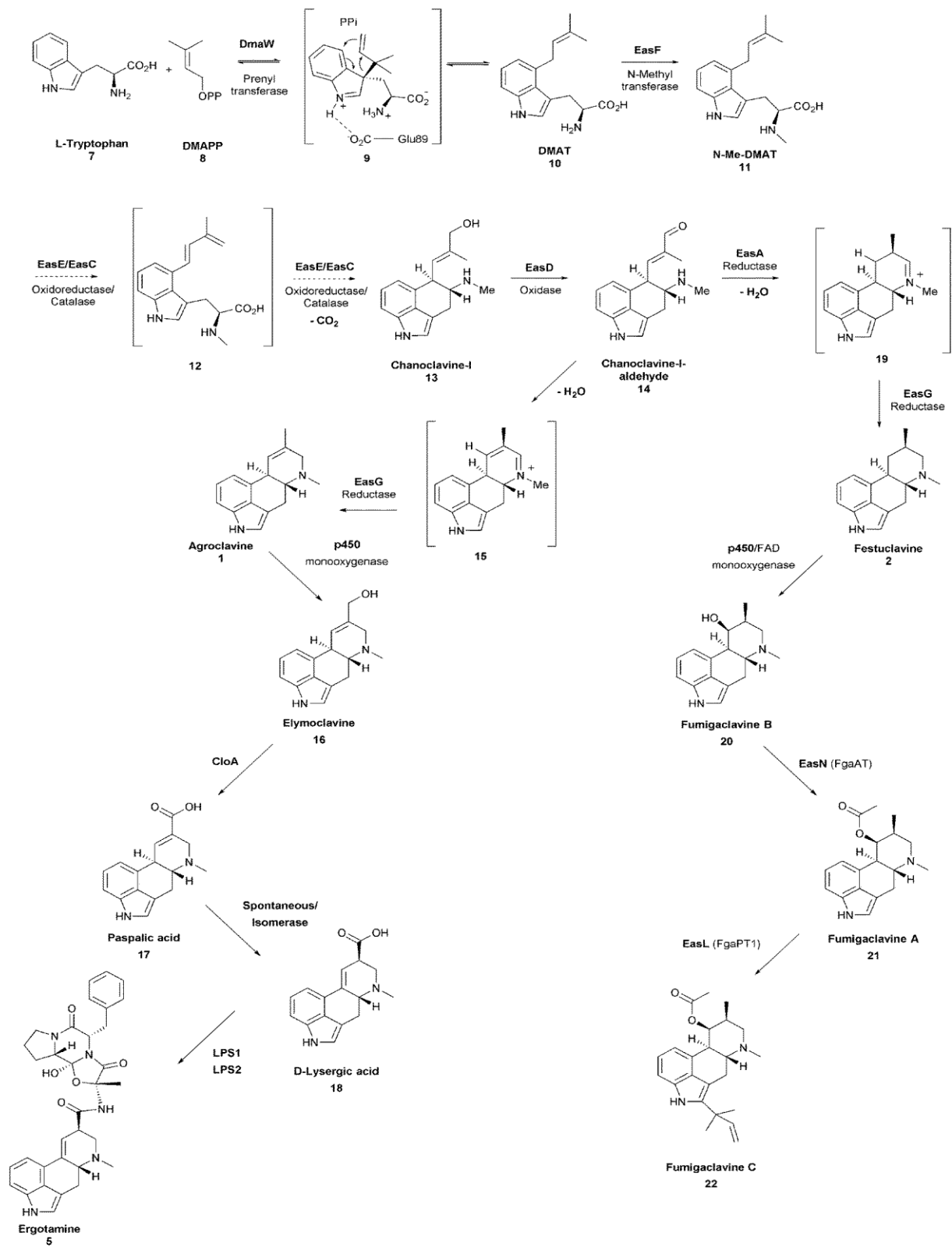
Annexe 1 : Caractères distinctifs des principales espèces de *Fusarium* (50)

Conidies	Espèces
<p>Microconidies piriformes ou quasi-sphériques Conidiophores en forme de bouteille Microconidies elliptiques Macroconidies de taille moyenne, rarement 5 cloisons Mycélium blanc grisâtre ou rougeâtre suivant les espèces</p>	<i>F. tricinctum</i> – <i>F. poae</i>
<p>Microconidies en bouquet sur conidiophores ramifiés Macroconidies de tailles et de courbures irrégulières Mycélium blanc rosé à rouge carmin plus ou moins fauve</p>	<i>F. roseum</i> var. <i>arthrosporioides</i>
<p>Microconidies en chaînes Macroconidies présentes Colonies poudreuses Mycélium blanc rosé à violacé en vieillissant</p>	<i>F. moniliforme</i>
<p>Microconidies en fausses têtes Macroconidies présentes Colonies poudreuses Mycélium blanc rosé à violacé en vieillissant</p>	<i>F. moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>
<p>Microconidies en fausses têtes Conidiophores courts Macroconidies inférieures ou égales à 4 µm en largeur Chlamydo-spores présentes Mycélium rose orangé à violacé</p>	<i>F. oxysporum</i>
<p>Microconidies souvent produites avec des macroconidies dominantes, supérieures ou égales à 4 µm en largeur Conidiophores allongés Chlamydo-spores présentes Mycélium blanchâtre ou fauve</p>	<i>F. solani</i>
<i>Microconidies absentes</i>	
<p>Macroconidies produites en masses roses à la lumière, obtuses aux deux extrémités Mycélium blanc...</p>	<i>F. nivale</i> = <i>Microdochium nivale</i>
<p>Macroconidies de plus de 5 µm de largeur peu pointues Chlamydo-spores présentes Mycélium rosé à rouge brique avec reflets jaunes</p>	<i>F. roseum</i> var. <i>culmorum</i>
<p>Macroconidies de 3 à 6 µm de largeur Absence de chlamydo-spores Mycélium rosé à rouge brique avec reflets jaunes</p>	<i>F. roseum</i> var. <i>graminearum</i>

Annexe 2 : Voie de synthèse de l'Ochratoxine A (89)



Annexe 3 : Voie de synthèse des alcaloïdes de l'ergot du seigle (151)



Bibliographie

- 1** : Bouchet P, Guignard J-L, Pouchus Y-V. Les champignons, mycologie fondamentale et appliquée. Paris : Masson 2^{ème} édition, 2005. pp. 109-111.
- 2** : Images libres de droits, disponibles sur : <http://www.flickr.com>.
- 3** : Dupuy J. Principales mycotoxines produites par des souches de *Fusarium* isolées de céréales. Toulouse : Thèse INP, 1994.
- 4** : Pfohl-Leszkowicz A. Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque. Paris : Tec&Doc, 1999. 478p.
- 5** : Mannon J, Johnson E. Fungi down on the farm. *New Sci*, 1985. pp. 12-16.
- 6** : Images libres de droits, disponibles sur : <http://commons.wikimedia.org>.
- 7** : Moreau C. Moisissures toxiques dans l'alimentation. Pologne : Masson Et Cie, 1994. 322p.
- 8** : D'Mello J.P, Porter J.K, McDonald. *Fusarium* Toxins. Boca Raton : CRC Press, 1997. pp. 287-301.
- 9** : Pitt J.I, Hocking A.D. Fungi and food spoilage. Sydney : Academic Press, 1985.
- 10** : Adebajo L.O, Bamgbelu O.A. Mould contamination and the influence of water activity and temperature on mycotoxin production by two *Aspergilli* in melon seed. *Die Nahrung*, 1994. pp. 209-217.
- 11** : Belli N, Marin S, Sanchis V. Influence of water activity and temperature on growth of isolates of *aspergillus* section *nigri* obtained from grapes, in *International Journal of Food Microbiology*, 2004.
- 12** : Lesage-Meesen L, Cahagnier B. Mécanisme d'adaptation des micromycètes aux activités de l'eau réduite, dans : Cahagnier B. Moisissures des aliments peu hydratés. Paris, Londres, New-York : Tec&Doc, 1998. pp. 21-35.
- 13** : Castegnaro M, Pfohl-Leszkowicz A. Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans *La sécurité alimentaire du consommateur*. Lavoisier, Tec&Doc, 2002.
- 14** : Norholt M.D, Van Egmond H.P, Paulsch W.E. Ochratoxin A production by some fungal species in relation to water activity and temperature. *Journal of Food Protection*, 1979. pp. 485-490.
- 15** : Botton B, Buton A, Fèvre M, *et al.* Moisissures utiles et nuisibles : importance industrielle. Paris : Masson 2^{ème} édition, 1990. 442p.
- 16** : Tabuc Cristina. Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Sous la direction de Sesan Tatiana et Bailly Jean-Denis. Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 2007. 190p. Ressource numérique disponible sur : oatao.univ-toulouse.fr/7652/.
- 17** : Blackwell B.A, Miller J.D, Savard M.E. Production of carbon 14-labeled fumonisin in liquid culture. *J Assoc. Off. Anal. Chem. Int*, 1994. pp. 506-511.
- 18** : Paster N, Bullerman L.B. Mould spoilage and mycotoxin formation in grain as controlled by physical means. *Int. J. Food. Microbiol* 7, 1988. pp. 257-265.
- 19** : Keller S.E, Sullivan T.M, Chirtel S. Factors affecting the growth of *Fusarium proliferatum* and the production of fumonisin B₁ : oxygen and pH. *J. Indust. Microbiol Biotechnology*, n°19, 1997. pp.305-309.
- 20** : Madhyastha S.M, Marquadt R.R, Frolich A.A, *et al.* Effects of different cereal and oilseed substrates on the growth and production of toxins by *Aspergillus alutaceus* and *Penicillium verrucosum*. *J. Agric. Food. Chem* 38, (1990). pp. 1506-1510.
- 21** : Payne G.A, Hagler W.M. Effect of specific amino acids on *Aspergillus flavus* in defined media. *Appl. Environ. Microbiol* 46, 1983, pp. 805-812.
- 22** : Moss M.O, Franck M. Prevention effects of biocides and other agents on mycotoxin production, in *Watson D.H, ed, Toxicants in foods*. Chichester : Ellis Horwood, 1987. pp. 231-251.
- 23** : Al-Hilli A.L, Smith J.E. Influence of propionic acid on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. *FEMS Microbiol. Lett*, 6, 1979. pp. 367-370.
- 24** : Lacey J. Factors affecting mycotoxin production, in : *Steyn P.S, Vleegaar R, Mycotoxins and phycotoxins. Pretoria, South Africa : 6th International IUPAC symposium on mycotoxins and phycotoxins*. 1986.

- 25** : Bouraima Y, Ayi-Fanou L, Kora I, *et al.* Mise en évidence de la contamination des céréales par les aflatoxines et l'ochratoxine A au Bénin, *dans : Creppy E.E, Castegnaro M, Dirheimer G. (Eds) Human ochratoxicosis and its pathologies*, 231. 1993. pp. 101-110.
- 26** : Farrar J.J, Davis R.M. Relationship among ear morphology, western flowers thrips and *Fusarium* ear rot of corn. *Physiopathology*, 81, 1991. pp. 661-666.
- 27** : Le Bars J. Toxinogenesis as a function of the ecological conditions of the grain/microorganisms systems, *in : Multon J.L. Preservation and storage of grains. Seeds and their by-products. New-York : Lavoisier Publishing*, 1988. pp. 347-366.
- 28** : Lipps P.E, Deep I.W. Influence of tillage and crop rotation on yield, stalk rot and the recovery of *Fusarium* and *Trichoderma* spp in corn. *Plant Disease* 75. 1991. 828-833.
- 29** : Miller J.D, Trenholm H.L. Mycotoxins in grain, compounds other than aflatoxins. Saint Paul, Minnesota : Egan Press, 1994.
- 30** : Kwon Chung K.J, Bennett J.E. *Medical Mycology*. London : Lea and Febiger, 1992.
- 31** : Ainsworth G.C. (1971). *Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi* (6th ed.). Kew : Surrey, Commonwealth Mycological Institute, 1971. 663p.
- 32** : Kiffer E, Morelet M. Les deutéromycètes, classification et clés d'identification générique. Paris : INRA, 1997. 306p.
- 33** : Badillet G, de Briève C, Guého E. Champignons contaminants des cultures, champignons opportunistes, *dans : Atlas clinique et biologique, volume II*. Paris : Edition VARIA, 1987.
- 34** : Meyer A, Deiana J, Bernard A. Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. France : Doin 2^{ème} édition, 2004.
- 35** : Campbell C.K, Johnson E.M, Philpot C.M. *et al.* Identification of pathogenic fungi, Public Health Laboratory Service, 1996.
- 36** : Pitt J.I, Hocking A.D. *Fungi and Food spoilage*, 2nd edition. London : Blackie Academic and Professional, 1987.
- 37** : Disponible sur : <http://www.visualsunlimited.com/image/I0000iTwhQpa35KE>.
- 38** : Université de Bretagne Occidentale, Les *Penicillium* [en ligne], disponible sur http://www.univ-brest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Principaux_groupes/Les+Penicillium.
- 39** : Samson R.A, Hoekstra E.S, Oorschot C.A.N. *Compendium of spoil fungi*. Volume 1. London : Academic Press, 1980.
- 40** : Storey E, Dangman K.H, Schenck P, *et al.* Guidance for clinicians on the recognition and management of health effects related to mold exposure and moisture indoors. Farmington, University of Connecticut Health Center, 2004.
- 41** : Pitt J.I. Toxigenic fungi and mycotoxins. *Br. Med. Bull*, 2000. 56 (1). pp. 184-192
- 42** : Bennett J.W and Klich M. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Review* 16, 2003. pp. 497-516.
- 43** : Hennequin C, Lavarde V. Infections à *Penicillium*, *Encycl. Méd. Chir*. Paris : Elsevier, 1998.
- 44** : Rosenthal E, Marty P, Ferrero C, *et al.* Infections à *Penicillium marneffe* chez un patient infecté par le HIV. *Press Méd*, 2000. pp. 363-364.
- 45** : Gams W, Christensen M, Onions A.H.S, *et al.* Infrageneric taxo of *Aspergillus*, *in : Samson R.A. Pitt J.I. Advances of Penicillium and Aspergillus systematics*. London&New-York, Plenum Publi, 1986.
- 46** : Raper K.B, Fennel D.I. The genus *Aspergillus*. New-York, USA, William&Wilkinson, 1965.
- 47** : Morin O. *Aspergillus* et aspergilloses : biologie, Ed. Techniques, *Encyl. Méd. Chir*. Paris : Elsevier, 1994. Maladies infectieuses 8-600-A-10.
- 48** : Baculard A, Tournier G. Aspergilloses broncho-pulmonaires et mucoviscidose, *Rev. Pneumol. Clin*, 1995. 51, 159-162.
- 49** : Schuster E, Dunn-Coleman N, Frisvad J.C, *et al.* On the safety of *Aspergillus niger*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59, 2002. pp. 426-435.
- 50** : Messiaen C.M, Cassini R. Recherche sur les Fusarioses. IV La systématique des *Fusarium*. *Ann. Epiphyties* 19, 1968. pp. 387-454.
- 51** : Chermette R, Bussieras J. Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par le Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons – Alfort, 1993.
- 52** : Roquebert M.F. Taxonomie des moisissures : Méthodes de culture et techniques d'observation, *in : Moisissures des aliments peu hydratés*, Paris : Tec&Doc, 1998. pp. 39-95.

- 53** : Gupta A.K, Baran R, Summerbell R.C. Fusarium infections of the skin. *Curr Opin Infect.Dis.* 13[2], 2000. pp.121-128.
- 54** : Trenholm H.L, Prelusky D.B, Young J.C, Miller J.D. Reducing Mycotoxins in Animal Feeds, Agriculture Canada, A63, 1988.
- 55** : Guarro J, Gene J. Fusarium infections, Criteria for the identification of the responsible species, *Mycoses*, 35, 1992. pp. 109-114.
- 56** : Duran J.A, Malvar A, Pereiro M, Pereiro Jr.M. *Fusarium moniliforme* keratitis, *Acta ophthalmol, Scand.* 67, 1989. pp.710-713.
- 57** : Larone D.H. Medically important fungi. A guide to identification, 2nd edition. New-York, London, Amsterdam : Elsevier Science Publishing, 1987. 230p.
- 58** : Rotem J. The genus *Alternaria* : biology, epidemiology, and pathogenicity. APS Press, 1994. 344p.
- 59** : Kinoshita T, Renbutsu Y, Khan I, *et al.* Distribution of tenuazonic acid production in the genus *Alternaria* and its phytopathological evaluation. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 38, 1972. pp. 397-404.
- 60** : Hradil C.M, Hallock I.F, Clardy J, *et al.* Phytotoxins of *Alternaria cassiae*. *Phytochemistry* 28, 1989.
- 61** : Bottalico A, Logrieco A, Toxigenic *Alternaria* species of economic importance, *in: Sinha K.K, Bhatnagar D. (Eds.) Mycotoxins in agriculture and food safety.* New-York, Marcel dekker Inc, 1998.
- 62** : Lawrie J, Down V.M, Greaves M.P. Factors Influencing the Efficacy of the Potential Microbial Herbicide *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler on *Amaranthus retroflexus*. *Biocontrol Science and Technology* 10, 2000. pp. 81-87.
- 63** : Rehacek Z, Sajdl P. Ergot Alkaloids. Amsterdam : Elsevier, 1990. 383p.
- 64** : Alderman S.C. Aerobiology of *Claviceps purpurea* in Kentucky bluegrass. *Plant Dis*, 77, 1993.
- 65** : Robbers J.E. The fermentative production of ergot alkaloids, *in: Alan R.L. Advances Biotechnological Process.* New-York : Liss Inc, Vol 3, 1984. pp. 197-239.
- 66** : Yiannikouris A, Jouany J.P. Mycotoxins in feeds and thier fate in animals, A review. *Anim. Res*, 51. 2002. pp. 81-99.
- 67** : Turner W.B. Fungal metabolites, New-York, London : Acad Press, 1971.
- 68** : Aldridge D.C, Turner W.B. Fungal metabolites II. London, New-York : Acad Press, 1983. 631p.
- 69** : Steyn P.S. The biosynthesis of mycotoxins. New-York, London : Acad Press, 1980.
- 70** : Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Rapport final, Maison Alfort, AFSSA, Mars 2009. Ressource numérique disponible sur : <https://www.anses.fr>.
- 71** : Asao T, Buchi G, Abdelkader M.M, *et al.* Aflatoxins B and G. *Am Chem.Soc.* 85, 1963. 1706-1707.
- 72** : Dutton M. F, Ehrlich K, Bennett, J. W. Biosynthetic relationship among aflatoxins B1, B2, M1 and M2. *Applied and Environmental Microbiology* 49, 1985. 1392–1398.
- 73** : Asao T, Buchi G, Abdelkader M.M, *et al.* Structures of Aflatoxins B and G1. *J Am. Chem. Soc.* 87,1965. 822-826.
- 74** : Wicklow D.T, Shotwell O.L. Intrafungal distribution of aflatoxins among conidies and sclerotia os *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *CAN. J. Microbiol*, 29, 1983. p. 135.
- 75** : Dorner J.W, Cole R.J, Diener U.L. The relationship of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* will reference to production of aflatoxins and cyclopiazonic acid. *Mycopathologia*, 87, 1984. 13-15.
- 76** : Brochard G, Le Bacle C. Mycotoxines en milieu de travail. I. Origine et propriétés toxiques des principales mycotoxines. Document pour le médecin du travail, DMT n°129, Septembre 2009.
- 77** : Chritensen C.M, Nelson G.H, Speers G.M, *et al.* Results of feeding tests with ration containing grain invaded by a mixture of naturally present fungus plus *Aspergillus flavus*. NRRL2999, Feedstuffs, 1973. pp. 20-41.
- 78** : IARC. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans. Volume 31 : Some food additives, feed additives and naturally occurring substances. IARC, Lyon, 1993.
- 79** : Kumagai S. Intestinal absorption and excretion of aflatoxins in rats. *Toxicol. Applic. Pharmacol*, 97, 1989. pp. 88-97.
- 80** : Müller N, Petzinger E. Hepatocellular uptake of aflatoxins B₁ by non-ionic diffusion. Inhibition of bile acid transport by interference with membrane lipids. *Biochem. Biophys. Acta*, 938, 1988.
- 81** : Ewaskiewicz J.I, Delvin T.M, Chih J.J. The *in vivo* disposition of aflatoxins B₁ in rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Common*, 179, 1991. 1095-1100.

- 82** : Kensler T, Qian G.S, Chen J.G, *et al.* Molecular pathway of aflatoxin detoxification, *in : translational strategies for cancer prevention in liver. Nature Reviews cancer* 3, may 2003. pp. 321-329. Disponible sur : www.nature.com.
- 83** : Wong Z.A, Hiesh D.P.H. The comparative metabolism and toxicokinetics of aflatoxins B₁ in the monkey, rat and mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 55, 1980. 115-125.
- 84** : Chen C, Pearson A.M, Coleman T.H, *et al.* Tissue deposition and clearance of aflatoxins from broiler chickens fed a contaminated diet. *Food. Chem. Toxic*, 22, 1984. 447-451.
- 85** : Wogan, G. N. Impacts of chemicals on liver cancer risk. *Seminars in Cancer Biology*, 10(3), 2000.
- 86** : CDC (Centers for Disease Control and Prevention). Outbreak of aflatoxin poisoning Eastern and Central Provinces, Kenya. 53, 2004. 790–793.
- 87** : Joubrane Karine. Evaluation du risque lié aux champignons pathogènes producteurs d'Ochratoxine A et Aflatoxine B₁ au niveau de la production de blé au Liban. Sous la direction de Khoury A, Maroun R. Thèse de doctorat de l'Université Saint Joseph de Beyrouth, 2011. 231p. Disponible sur : www.fs.usj.edu.lb.
- 88** : Van der Merwe K.J, Steyn P.S, Fourie L, *et al.* Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* wilh. *Nature* 205, 1956. 1112-1113.
- 89** : Huff, W. E, Hamilton, P.B. Mycotoxins-their biosynthesis in fungi : ochratoxins metabolites of combined pathways. *J. Food Prot.*, 42, 1979. 815-820.
- 90** : Ökotoxikologie, Mykotoxine. Universität Konstanz, disponible sur <http://www.umwelttoxikologie.uni-konstanz.de>.
- 91** : Weidenburner M. Encyclopedia of food mycotoxins. Berlin : Edition Springer, 2001. 296p.
- 92** : International Agency for Research on Cancer. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to human, some naturally occurring substances : food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins, volume 56. Lyon : IARC, 1993.
- 93** : Pohland A.E, Schüller P.L, Steyn P.S, *et al.* Physico-chemical data for selected mycotoxins. *Pure Appl. Chem*, 54, 1982. 2219-2284.
- 94** : Azemar B. Etude du rôle de l'Ochratoxine A, une mycotoxine alimentaire, dans l'induction des cancers des voies urinaires chez l'homme. Mécanismes moléculaire impliqué. Thèse universitaire Toulouse, 2001.
- 95** : Müller H.M. Decontamination of mycotoxins. I. Physical process. *Übersicht. Tierernähr*, 10, 1982.
- 96** : Castegnaro M, Barek J, Frémy J.M, *et al.* Laboratory Decontamination and Destruction of Carcinogens in Laboratory Wastes : Some Mycotoxins. Lyon : IARC, SCI. Publ 113, 1991. p. 63.
- 97** : Safety evaluation of certain mycotoxins in foods. WHO Food Additives Series, 47. WHO, 2001. Disponible sur : www.inchem.org.
- 98** : Trenk H.L, Butz M.E, Chu F.S. Production of ochratoxins in different cereal products by *Aspergillus ochraceus*. *Appl. Microbiol* 21, 1991. 1032-1035.
- 99** : Mislivec P.B, Tuite J. Temperature and relative humidity requirements of species of *Penicillium* isolated from yellow dentcorn kernels. *Mycologia* 62, 1970. 75-88.
- 100** : Cuero R.G, Smith J.E, Lacey J. Stimulation by *Hyphopichia burtonii* and *Bacillus amyloliquefaciens* of aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in irradiated maize and rice grains. *Applied And Environmental Microbiology* 53, 1987. 1142-1146.
- 101** : Pohland A.E, Nesheim S, Friedman L. Ochratoxin A : A review. *Pure and Appl.Chem.* 64, 1992.
- 102** : Molinié A. Qualité sanitaire des blés en région Midi-pyrénées : suivi du taux de contamination en mycotoxines (ochratoxine A et citrinine). Etude des effets biologiques de l'exposition à ces deux toxines. Sous la direction du Pr A. Pfohl-Leszkowicz. Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 2004. 231p.
- 103** : Sokol P.P, Ripich G, Holohan P.D, *et al.* Mechanism of ochratoxin A transport in kidney. *The Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics*, 246, 1988. 460-465.
- 104** : Kumagai S, Aibara K. Intestinal absorption and secretion of ochratoxin A in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 64, 1982. 94-102.
- 105** : Schlatter C, Studer-Rohr J, Rasonyl T. Carcinogenicity and kinetic aspects of ochratoxin A. *Food Addit. Contamin*, 13, 1996. 43-44.
- 106** : Li S, Marquardt A, Frohlich A, *et al.* Pharmacokinetics of ochratoxin A and its metabolites in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 145, 1997. 82-90.

- 107** : Ringot D, Chango A, Schneider Y.J, *et al.* Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. Elsevier : Chemico-Biological Interactions 159, 2000. 18-46.
- 108** : Pitout M.J. The hydrolysis of ochratoxin A by some proteolytic enzymes. Biochemical Pharmacology, 18, 1969. 485-491.
- 109** : Pfohl-Leszkowicz A, Manderville R. Review on Ochratoxin A : an overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. Mol. Food. Res, 51, 2007. 61-99.
- 110** : Faucet V, Pont F, Størmer F.C, *et al.* Evidence of a new dechlorinated ochratoxin A derivative formed in opossum kidney cell cultures after pretreatment by modulators of glutathione pathways : Correlation with DNA-adduct formation. Molecular Nutrition&Food Research, 50, 2006. 530-542.
- 111** : Kane A, Creppy E.E, Roth A, *et al.* Distribution of the [3H]-label from low doses of radioactive ochratoxin A ingested by rats, and evidence for DNA single-strand breaks caused in liver and kidneys. Archives of Toxicology 58, 1986. 219-224.
- 112** : Wei Y, Lu C, Lin T.N, *et al.* Effect of Ochratoxin A on rat liver mitochondrial respiration and oxidative phosphorylation. Toxicology 36, 1985. 119-130.
- 113** : Singh G.S, Chauhan H.V, Jha G.J, *et al.* Immunosuppression due to chronic ochratoxicosis in broiler chicks. Pathol 103, 1992. 399-340.
- 114** : Lea T, Steien K, Stormer C. Mechanisms of Ochratoxin A induced immunosuppression. Mycopathologia 107, 1989. 153-159.
- 115** : Faucet-Marquis V. L'ochratoxine A, contaminant alimentaire, est-elle un cancérigène génotoxique ou épigénétique ? Recherche des effets génotoxiques par la technique de post-marquage de l'ADN au 32P en relation avec la métabolisation de l'ochratoxine A. Sous la direction du Pr A. Pfohl-Leszkowicz. Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 2005. 285p.
- 116** : Halliwell B, Gutteridge J.M.C. Free radicals and antioxidant protection, mechanisms and significance in toxicology and disease. Hum. Toxicol. 7, 1986. 7-13.
- 117** : Creppy E. E, Kern D, Steyn P.S, *et al.* Comparative study of the effect of ochratoxin A analogues on yeast aminoacyl-tRNA, synthetases and on the growth and protein synthesis of hepatoma cells. Toxicology Letters 19, 1983. 217-224.
- 118** : Meisner H, Cimbala M. Effect of ochratoxin A on gene expression in rat kidneys. Developments In Toxicology And Environmental Science 12, 1986. 261-271.
- 119** : Bezuidenhout S.C, Gelderblom W.C.A, Gorst-Allman C.P, *et al.* Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. J. Chem. Soc. Commun. 11, 1988. 743-745.
- 120** : Dutton M.F. Fumonisins, mycotoxins of increasing importance : Their nature and their effects. Pharmacol. Ther. 70, 1996. 137-161.
- 121** : Gelderblom W.C.A, Marasas W.F.O, Vleggaar R, *et al.* Fumonisins : isolation, chemical characterization and biological effects. Mycopathologia 117, 1992. 11-16.
- 122** : Branham R.D.A, Plattner R.D. Isolation and characterization of a new fumonisin from liquid culture of *Fusarium moniliforme*. J. Nat. Prod. 56, 1993. 1630-1633.
- 123** : Vesonder R.F, Labeda D.P, Peterson R.E. Phytotoxic activity of selected water soluble metabolites of *Fusarium* against *Lemma minor*. Mycopathologia 118, 1992. 185-189.
- 124** : Dupuy J, Le Bars P, Boudra H, *et al.* Thermostability of Fumonisin B₁, a mycotoxin from *Fusarium moniliforme*, in corn. Appl. Environ. Microbiol, 59, 1993. 2864-2867.
- 125** : Jackson L.S, Hlywla J.J, Senthil K.R, *et al.* Effects of thermal processing on the stability of fumonisin B₂ in an aqueous system. J. Agric. Food Chem. 44, 1996. 1984-1987.
- 126** : Nelson P.E. Taxonomy and biology of *Fusarium moniliforme*. Mycopathologia 117, 1992.
- 127** : Jaskiewicz K, Van Rensburg S.J, Marasas W.F, *et al.* Carcinogenicity of *Fusarium moniliforme* culture material in rats. J. Nat. Cancer Inst. 78, 1987. 321-325.
- 128** : Cahagnier B, Melcion D, Richard-Molard D. Growth of *F. moniliforme* and its biosynthesis of fumonisin B₁ on maize grain as a function of different water activities. Appl. Microbiol 20, 1995.
- 129** : Internal Programme on Chemical Safety. Environ. Health Canada 219, 2004. Disponible sur : <http://inchem.org>.
- 130** : Norred W.P, Plattner R.D, Chamberlain W.J. Distribution and excretion of [14C]fumonisin B₁ in male Sprague-Dawley rats. Nat. Toxin 1, 1993. 341-346.
- 131** : Shephard G.S, Thiel P.G, Sydenham E.W, *et al.* Fate of a single dose of 14C-labelled fumonisin B₁ in vervet monkeys. Nat. Toxins 3, 1995. 145-150.

- 132** : Marasas W.F, Kellerman T.S, Gelderblom W.C, *et al.* Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1 isolated from *Fusarium moniliforme*. Onderstepoort J. Vet. Res. 55, 1988. 197-203.
- 133** : Harrison L.R, Colvin B.M, Greene J.T, *et al.* Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. J. Vet. Diagn. Invest. 2, 1990.
- 134** : Merrill A.H, Sullards M.C, Wang E, *et al.* Sphingolipid metabolism : roles in signal transduction and disruption by fumonisins. Environ Health Perspect, 109, 2001. 283-289.
- 135** : Burger B.H.M, Abel S, Snijman PW, *et al.* Altered Lipid Parameters in Hepatic Subcellular Membrane Fractions Induced by Fumonisin B1. Lipids 42, 2007.
- 136** : Stockmann-Juvala H, Savolainen K. A review of the toxic effects and mechanisms of action of fumonisin B₁. Hum. Exp. Toxicol. 27, 2008. 799-809.
- 137** : Stob M, Baldwin R.S, Tuite J, *et al.* Isolation of an anabolic uterotrophic compound from corn infested with *Gibberella zeae*. Nature 196, 1962. 1318.
- 138** : Merck Index. Twelfth Edition, 1996. 1730-1731.
- 139** : Bravin F, Radu C, Balaguer P, *et al.* In Vitro Cytochrome P450 Formation of a Mono-Hydroxylated Metabolite of Zearalenone Exhibiting Estrogenic Activities: Possible Occurrence of This Metabolite in Vivo. Int. J. Mol. Sci, 10(4), 2009. 1824-1837.
- 140** : Hidy P.H, Baldwin R.S, Gresham R.L, *et al.* Zearalenone and some derivatives : production and biological activities. Adv. Appl. Microbiol. 22, 1977. 59-87.
- 141** : Atalla M.M, Hassanein N.M, El-Beih A.A, *et al.* Mycotoxin production in wheat grains by different *Aspergilli* in relation to different relative humidities and storage periods. Nahrung 47(1), 2003. 6-10.
- 142** : Callebaut A, Debongnie P, Tangni E, *et al.* Zéaralénone. Centre d'Etude et de Recherche Vétérinaires et Agrochimiques. Disponible sur www.coda-cerva.be (consulté le 02/01/2016).
- 143** : Caldwell R.W, Tuite J. Zearalenone production among *Fusarium* species. Physiopathologia 58, 1968. 1046.
- 144** : Ramos A.J, Hernandez E, Pla-Delfina J.M, *et al.* Intestinal absorption of zearalenone and *in vitro* study of non-nutritive sorbent materials. Int. J. Pharma. 128, 1996. 129-137.
- 145** : Biehl M.L, Prelusky D.B, Koritz G.D, *et al.* Biliary excretion and enterohepatic cycling of zearalenone in immature pigs. Toxicol. Appl. Pharmacol. 121, 1993. 152-159.
- 146** : Zinedine A, Soriano J.M, Molto J.C, *et al.* Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone : An oestrogenic mycotoxin. Food and Chemical Toxicology 45, 2007. 1-48.
- 147** : Gaumy J.L, Bailly J.D, Burgat V, *et al.* Zéaralénone : propriétés et toxicité expérimentale. Groupe de Mycotoxicologie E.N.V.T Toulouse. Revue Méd. Vét. 152, 2001. 234p.
- 148** : Farnworth E.R, Trenholm H.L. The effect of the acute administration of the mycotoxin zearalenone to female pigs. J. Environ. Sci. B16, 1981. 239-252.
- 149** : Nogowski L. Effect of the myco-œstrogen zearalenone on carbohydrate and lipid metabolism indices in ovariectomized female rats. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 75, 1996. 156-163
- 150** : Schardl C, Panaccione D, Tudzynski P. Ergot Alkaloids. Biology and Molecular Biology. The Alkaloids Chemistry and Biology 63, 2006. 45-86.
- 151** : Jakubczyk D, Cheng J.Z, O'Connor S.E. Biosynthesis of the ergot Alkaloids. Nat. Prod. Rep, 2014. 31. 1328-1338.
- 152** : Lorenz K. Ergot on cereal grains. CRC Critical Reviews in Food Sci. And Nutri. 11(4), 1979.
- 153** : Panaccione D.G, Coyle C.M. Abundant respirable ergot alkaloids from the common airborne fungus *Aspergillus fumigatus*. Appl. Environ. Microbiol, 71(6), 2005. 3106-3111.
- 154** : Cornière A. Les Alcaloïdes de l'ergot : mycotoxines ré-émergentes ? Toxinogénèse et toxicité pour l'Homme et les animaux. Sous la direction de Kolf-Clauw M. Thèse de doctorat de l'Université Paul Sabatier de Toulouse, 2014. 99p. Disponible sur : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>.
- 155** : Aellig W.H, Nüesch E. Comparative pharmacokinetic investigations with tritium-labeled ergot alkaloids after oral and intravenous administration in man. Int. J. Clin. Pharmacol. 15(3), 1977. 106.
- 156** : Goldfrank L. Toxicologic Emergencies, 7 Edition, 2002. 682-683.
- 157** : Moubarak A.S, Wang H, Johnson Z.B, *et al.* Interaction of ergotamine with liver cytochrome P4503A in rats. Agri. Sci. Vol n°3, 6, 2002. 795-798.
- 158** : Données disponibles sur www.pharmacorama.com.

- 159** : Tran M.A, Montastruc P, Montastruc J.L. Bases pharmacologiques de l'utilisation thérapeutique des alcaloïdes de l'ergot de seigle - Presse méd. 12, 1983. 517-520.
- 160** : Ueno Y. Trichothecene mycotoxins. In Draper H. *Advances in nutritional research*, vol 3. 1980.
- 161** : Balzer A, Tardieu D, Bailly J-D, *et al.* Les Trichothécènes : Nature des toxines présence dans les aliments et moyens de lutte. Unité de mycotoxicologie, E.N.V.T. Toulouse. Revue Méd. Vét. 2004.
- 162** : IPCS. Selected Mycotoxins : Ochratoxins, Trichothecenes, ergot. Environ. Health. Criteria 105. Genève, W.H.O, 1990. 263p.
- 163** : Vidal D.R. Propriétés immunosuppressives des mycotoxines du groupe des trichothécènes. Bull. Inst. Pasteur 88, 1990.
- 164** : Matsumoto H, Ito T, Ueno Y. Toxicological approaches to the metabolite of *Fusaria*. Fate and distribution of T-2 Toxin in mice. Japan, J. Exp. Med. 48, 1978. 393p.
- 165** : Meky F.A, Turner P.C, Ashcroft A.E, *et al.* Development of a urinary biomarker of human exposure to deoxynivalenol. Food Chem. Toxicol. 42(1), 2003. 265-273.
- 166** : De Nicola D.B, Rebar A.H, Carlton W.W. T₂ toxin mycotoxicosis in the guinea-pig. Fd. Cosmet. Toxicol. 16, 1978. 601-609.
- 167** : Parent-Massin, D. Haematotoxicity of trichothecenes. Toxicol. Lett. 153, 2004. 75-81.
- 168** : Jagadeesan V, Rukmini C, Vijayaraghavan M, *et al.* Immune studies with T-2 toxin: effect of feeding and withdrawal in monkeys. Food Chem. Toxicol. 20(1), 1982. 83-87.
- 169** : Lafarge-Frayssinet C, Decloitre F, Rousset S, *et al.* Induction of DNA single-strand breaks by T-2 Toxin, a trichothecene metabolite of *Fusarium* : effect on lymphoid organs and liver. Mutation Res. 88, 1981. 115-123.
- 170** : Bondy G.S, Pestka J.J. Dietary exposure to the trichothecene vomitoxin stimulates terminal differentiation of Peyer's patch B cells to IgA secreting plasma cells. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1991.
- 171** : Production Mariana Ruiz, disponible sur <https://commons.wikimedia.org>.
- 172** : Ehrlich K.C, Daigle K.W. Protein synthesis inhibition by oxo-8-12,13-epoxytrichothecenes. Biochim. Biophys. Acta. 923, 1983. 206-213.
- 173** : Waksman S.A, Horning E.S. Distribution of antagonist fungi in nature and their antibiotic action. Mycologia, 1943. 47-65.
- 174** : Birkinshaw J.h, Bracken A, Raistrick H. Studies in the biochemistry of micro-organism : 72. Gentisyl alcohol (2 : 5-dihydroxybenzyl alcohol) a metabolic product of *Penicillium patulum*. Biochem. Journal 37(6), 1943. 726.
- 175** : Katzman P.A, Hays E.E, Cain C.K, *et al.* Clavacin, an antibiotic substance from *Aspergillus clavatus*. J. Biol. Chem. 154(2), 1944. 475-486.
- 176** : Weast R.C. Handbook of Chemistry and Physics, 66th ed. Boca Raton, FL, CRC Press, 1985. 390p.
- 177** : Windholz M. The Merck Index, 10th ed. Rahway N.J, Merck and Co, 1983. P1012.
- 178** : Neri F, Donati I, Veronesi F, *et al.* Evaluation of *Penicillium expansum* in usual and less common fruit hosts. Int. J. of Food Microbiol. 143(3), 2010. 109-117.
- 179** : McCallum J.L, Tsao R, Zhou T. Factors affecting patulin production by *Penicillium expansum*. J. of Food Protection, 65(12), 2002. 1937-1942.
- 180** : Rychlik M, Kircher F, Schusdziarra V, *et al.* Absorption of the mycotoxin patulin from the rat stomach. Food Chemical Toxicology, 42, 2004. 729-735.
- 181** : Dailey R.E, Blaschka A.M, Brouwer E.A. Absorption, distribution and excretion of ¹⁴C-patulin by rats. J. Toxicol. Health, 3, 1977. 479-489.
- 182** : Moulé Y, Hatey F. Mechanism of the *in vitro* inhibition of transcription by patulin, a mycotoxin from *Byssoschlamys nivea*. FEBS Lett, 74, 1977. 121-125.
- 183** : Ripert C. Mycologie médicale. Paris, Tec&Doc, Lavoisier, 2013. 750p.
- 184** : Smith E.E, Kubena L.F, Braithwaite C.E, *et al.* Toxicological evaluation of aflatoxin and cyclopiazonic acid in broiler chickens. Poultry Science 71, 1992. 1136-1144.
- 185** : Betina V. Mycotoxins : Chemical, biological and environmental aspects. Amsterdam, New-York : Elsevier, 1989. 438p
- 186** : Cole R.J. Etiology of turkey « X » disease in retrospect : a case for the involvement of cyclopiazonic acid. Mycotoxin Research 2, 1986. 3-7.
- 187** : Valdes J.J, Cameron J.E, Cole R.J. Aflatrem : a tremorgenic mycotoxin with acute neurotoxic effects. Environ. Health Perspect. 62, 1985. 459-463.

- 188** : Moreau C. Les mycotoxines à effets trémorgéniques. *Cryptogram. Mycol.* 11(2), 1990. 89-110.
- 189** : Caruso D, Moreau Y, Talamond P. Mycotoxines et pisciculture : un risque oublié ? *Cahiers Agricultures* 22(3), 2013.
- 190** : Downs S.H, Mitakakis T.Z, Marks G.B, *et al.* Clinical importance of *Alternaria* exposure in children. *Am. J. Resp & Crit. Care Med.* 164, 2001. 455-459.
- 191** : Chung Y.J, Yang G.H, Islam Z, *et al.* Up-regulation of macrophage inflammatory protein-2 and complement 3A receptors by the TCT, DON and satratoxins. *Toxicology* 186(1,2), 2003. 51-65.
- 192** : Kovalsky P. Climate change and mycotoxin prevalence. *Broadening Horizons* n° 7, 2014. Disponible sur www.feedipedia.org.
- 193** : Nährer K, Kovalsky P. Surveying the mycotoxin threat. The where and what of mycotoxin contamination. *BIOMIN Mycotoxin survey 2013. Science and Solutions* 5, 2014. 12p.
- 194** : Groopman J.D, Croy R.G, Wogan G.M. In vitro reactions of aflatoxin B₁-adducted DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 78. USA, 1981.
- 195** : Cabanes F.J, Accensi F, Bragulat M, *et al.* What is the source of ochratoxin A in wine ? *Inter. J. of Food Microbiol.* 79, 2002. 213-215.
- 196** : Eufic. Questions et réponses sur la dose journalière admissible (DJA). Consulté le 06/02/2016. Disponible sur : www.eufic.org.
- 197** : World Health Organization (WHO). Safety evaluation of certain mycotoxins in food. 56th report of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *WHO Technical Report Series*, 906, 2002. 1-74.
- 198** : Jard G. Étude de différents modes d'élimination biologique de la zéaralénone, mycotoxine présente dans les céréales : Adsorption et Biotransformation. Sous la direction de Liboz T, Lebrihi A. Thèse de doctorat de l'Université de Toulouse (INP), 2009. 195p.
- 199** : European Union. Commission Regulation (CE) n° 1881/2006 of 19 december 2006 (abrogate regulation n° 466/2001/CE). Setting maximum levels for certain contaminants in food stuffs. *Official Journal of the European Union* L364, 2006. 5-24.
- 200** : CAST. Mycotoxins : risks in plant, animal, and human systems. *Ames IOWA. Rep.* 139, 2003.
- 201** : FAO. Étude FAO Alimentation et Nutrition. Réglementation relative aux mycotoxines dans les produits d'alimentation humaine et animale, à l'échelle mondiale en 2003. 188p.
- 202** : Mycored. Mycotoxins. *International Society for Mycotoxicology*. Consulté le 07/02/2016. Disponible sur : www.mycored.eu.
- 203** : Hadjeba-Medjdoub K. Risque de multi-contaminations en mycotoxines et moyens de désactivation par les parois de levures et levures enrichies en glutathion ou sélénométhionine. Sous la direction de Pfohl-Leszkowicz A. Thèse de doctorat de l'Université de Toulouse (INP). 2012. 328p.
- 204** : ATS. Respiratory health hazards in agriculture. *AM. J. Resp. Crit. Med.* 158, 1998. 1-76.
- 205** : Larousse médical. Mycose. Consulté le 09/02/2016. Disponible sur : www.larousse.fr.
- 206** : Chernozemsky I.N, Stoyanov I.S, Petkova-Bocharova T.K, *et al.* Geographic correlation between the occurrence of endemic nephropathy and urinary tract tumours in vratza district, Bulgaria. *International Of Cancer*, 19, 1977. 1-11.
- 207** : Markovic B. Néphropathie des Balkans et carcinomes à cellules transitionnelles. *Journal d'Urologie*, 91, 1985. 215-220.
- 208** : Radonic M, Radošević Z. Clinical feature of Balkan Endemic Nephropathy. *Food Chem. Toxicol.* 30, 1992. 189-192.
- 209** : Creppy E.E, Baudrimont I, Betbeder A.M. Ochratoxines et conséquences en toxicologie. *Cryptogamie Mycol.* 16(3), 1995. 195-221.
- 210** : Caulin C. Recommandations en pratique. 165 stratégies thérapeutiques. *Vidal Recos* 2012.
- 211** : Cornière A. Les alcaloïdes de l'ergot : mycotoxines ré-émergentes ? Toxinogénèse et toxicité pour l'Homme et les animaux. Sous la direction de Kolf-Claw M. Thèse de doctorat de l'Université de Toulouse, 2014. 99p.
- 212** : Craig Merhoff G, Porter J.M. Ergot intoxication: Historical Review and Description of Unusual Clinical Manifestations – *Ann. Surg.* 180(5), November 1974.
- 213** : Forgacs J. Alimentary toxic aleukia (ATA) in man. *Adv. Vet. Sci.* 7, 1962. 347-358.
- 214** : Lafont P, Lafarge-Frayssinet C, Lafont J, *et al.* Métabolites toxiques de *Fusarium*, agents de l'aleucie toxique alimentaire. *Ann. Microbiol.* 128(B), 1977. 215-220.

- 215** : Joffe A.Z. *Fusarium poae*, and *F. sporotrichoides* as principal agents of alimentary toxic aleukia. Marcel Dekker, New-York, 1978. 21-86.
- 216** : Lutsky I, More N. Experimental alimentary toxic aleukia in cats. *Lab. Anim. Sci.* 31(1), 1981.
- 217** : Hôpital Erasme. Cancer primitif du foie ou hépatocarcinome. *Oncologie digestive*. Consulté le 14/02/2016. Disponible sur : www.oncogastro.onconet.be.
- 218** : Joffe A.Z. *Fusarium species : their biology and toxicology*. New-York, John Wiley and Sons, 1986.
- 219** : Zhang G, Liu J. An experimental animal model of Kaschin-Beck disease. *Ann Rheum. Dis.* 48, 1989.
- 220** : *Vulgaris médical*. Kwashiorkor. Consulté le 13/02/2016. Disponible sur www.vulgaris_medical.com.
- 221** : Hesseling P.B. Onyalai. *Baillière's Clin. Haematol.* 5, 1992. 457-473.
- 222** : Rabie C.J, Van Rensburg S.J, Van der Watt J.J, *et al.* Onyalai. The possible involvement of a mycotoxin produced by *Phoma sorghina* in the aetiology. *S. Afr. Med.* 49, 1975. 1647-1650.
- 223** : Uruguchi K, Yamazaki M. *Toxicology, biochemistry and pathology of mycotoxins*, 1978. 6-1.
- 224** : Ueno Y. Citreoviridin from *Penicillium citreoviride biourge*. In : *Purchase. I.F.H. ed. Mycotoxins chap III*. Elsevier, Amsterdam, 1974. 283-302.
- 225** : Jeunot B. Les fusariotoxines sur céréales, détection, risque et nouvelle réglementation. Sous la direction de Benizri E. Thèse de doctorat de l'Université Henri Poincaré de Nancy I, 2005. 125p.
- 226** : Grosjean F, Leuillet M, Berhaut P, *et al.* Dossiers mycotoxines. *Perspectives Agricoles*, 278, 2002.
- 227** : Olsen M, Jonsson N, Magan N, *et al.* Prevention of Ochratoxin A in Cereals. OTA PREV. Final Report. Quality of Life and Management of Living Resources, 2003.
- 228** : Borde I. La PCR, *polymerase chain reaction*, ou réaction de polymérisation en chaîne. Consulté le 30/01/2015. Disponible sur : www.snv.jussieu.fr.
- 229** : Université de Genève. La PCR. Consulté le 30/01/2015. Disponible sur : www.bioutils.unige.ch.
- 230** : Sherlock J.C. Key issues in the use of biomarkers for assessing risks from food chemicals, in : *Crews M.H, Hanley A.B. Biomarks in food chemicals risk assessment. The Royal Society of Chemistry*. London, UK, 1995. 1-8.
- 231** : Jemmali M. Decontamination and detoxification of mycotoxins. *Pure Applied Chem.* 52, 1979.
- 232** : Boudra H, Barnouin J, Dragacci S, *et al.* Aflatoxin M₁ and Ochratoxin A in raw bulk milk from french dairy herds. *J. of Dairy Science* 90, 2007. 3197-3201.
- 233** : Sinha A.K. The impact of insect pests on a atoxine contaminant of stred wheat and maize in : *Proceedings of the 6th Internationak Working Conference on Stored-product Protection*. UK, 1994.
- 234** : Galtier P, Draggaci S. *Danger dans l'assiette*. Quae Éditions, 2011. 184p.
- 235** : Delos M, Regnault C, Joudrier P. Les mycotoxines dans les récoltes de céréales. Quelle gestion en 2013 ? Qu'attendre des biotechnologies contre ces fléaux ? Académie d'Agriculture de France, 2014.
- 236** : Pageau D, Filion P. Fusariose : réduire les risques aux champs ! Journée d'informations sur les mycotoxines. Consulté le 21/01/16. Disponible sur www.symposium-mycotoxines.ca.
- 237** : Raiffaud C. Les brèves du réseau Alimentation et Technologies Agro-Alimentaires. Décembre 2015. Disponible sur : www.genie-alimentaire.fr.
- 238** : Scott P.M. Effects of food processing on mycotoxins. *J. Food Prot.* 47, 1984. 489-499.
- 239** : Guerre P. Intérêt des traitements des matières premières et de l'usage d'adsorbants lors d'une contamination du bétail par des mycotoxines. *Revue Méd. Vét.* 151, 2000. 1095-1106.
- 240** : David A. *Aliments fermiers et mycotoxines : évaluation et maîtrise de risque*. Revue bibliographique. Thèse de doctorat de l'université de Nantes, 2001. 183p.
- 241** : Bohm J, Grajewski J, Asperger H, *et al.* Study on biodegradation of some A- and B-trichothecenes and ochratoxin A by use of probiotic microorganisms. *Mycotoxin Res.* 16, 2000.
- 242** : Chu F.S, Fang C.C, Ashoor S.H, *et al.* Stability of aflatoxin B₁ and ochratoxin A in brewing. *Appl. Microbiol.* 29, 1975. 313-316.

Serment de Galien

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Thèse soutenue par : GAUTHIER Alban

Titre : Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé

Thèse de Docteur en Pharmacie : Bordeaux 2016 ; N° 43

Résumé :

Les mycotoxines sont des substances toxiques provenant du métabolisme secondaire d'un certain nombre de moisissures appartenant principalement aux genres *Fusarium*, *Claviceps*, *Alternaria*, *Aspergillus* et *Penicillium*. Ces *Fungi imperfecti* se développent particulièrement sur les céréales avant, pendant et après la récolte. Environ 25 % des denrées seraient contaminés par des toxines fongiques, représentant ainsi une perte de 5 à 10 % des récoltes mondiales.

La diversité des mycotoxines est assez vaste mais toutes ne sont pas dignes d'intérêt. Sur les 400 mycotoxines connues, seule une trentaine possède des propriétés toxiques préoccupantes. Les toxines fongiques sont, chez l'animal et l'être humain qui en consomment, à l'origine d'effets biologiques nocifs regroupés sous le terme de mycotoxicoses. Les intoxications aiguës sont rares et encore moins fréquentes chez l'Homme que chez l'animal. Les intoxications chroniques sont bien plus redoutées. Cancérogénèse, immunotoxicité, néphrotoxicité, hépatotoxicité et neurotoxicité forment la palette des effets chroniques néfastes des toxines fongiques.

Par ailleurs, leurs propriétés leur attribuent une grande résistance aux traitements physiques et chimiques, rendant ainsi possible leur transfert dans les chaînes de production agro-alimentaires.

Outre l'impact économique, les mycotoxines posent donc un réel problème de santé publique. La gestion du risque passe par la prévention de la contamination des matières premières, le respect des bonnes pratiques de culture et de stockage, ainsi que la mise en place d'une réglementation fixant des concentrations maximales admissibles dans les denrées alimentaires.

Discipline : Sciences Pharmaceutiques

Mots clés :

Mycotoxine, Mycotoxinogénèse, Aflatoxine, Ochratoxine, Fumonisine, Mycotoxicose, Moisissure

Université de Bordeaux

U.F.R des Sciences Pharmaceutiques

146, Rue Léo Saignat

33076 BORDEAUX