



**HAL**  
open science

## Les ochratoxines : détection, toxicité, prévention

Astrid Mièvre El Hamidi

► **To cite this version:**

Astrid Mièvre El Hamidi. Les ochratoxines : détection, toxicité, prévention. Sciences pharmaceutiques. 1994. dumas-02096371

**HAL Id: dumas-02096371**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02096371>**

Submitted on 11 Apr 2019

**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.

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :  
[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

*1er exemplaire*

UNIVERSITE Joseph FOURIER GRENOBLE I  
Sciences Technologiques Médecine

**U.F.R. DE PHARMACIE**

Domaine de la Merci - La Tronche

ANNEE :

N° D'ORDRE :

*7032*

**LES OCHRATOXINES :**  
**DETECTION, TOXICITE, PREVENTION,**

THESE

Présentée à l'Université Joseph FOURIER GRENOBLE I  
pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE.

Par:

Mme : **MIEVRE Astrid** épouse **EL HAMIDI**

[Données à caractère personnel]

Cette thèse sera soutenue publiquement le 08 juillet 1994.

Devant : Mme le Professeur **GRILLOT** , Président du jury  
: Mme **PINEL** ; *maître de conférences.*  
: Mr **PERDRIX** ; *médecin au CHU*



A mon père et ma mère

A Marie-Laure et Annabelle

A Driss

A toute ma famille

Pour leur soutien tout au long de mes études.

A Madame le Professeur GRILLOT

Pour avoir accepté de présider à ce jury de thèse.  
Je lui adresse tous mes remerciements et l'assurance de ma considération.

A Madame PINEL

Qui a bien voulu me confier ce travail, et me guider dans sa réalisation.  
Je la remercie vivement pour sa gentillesse, sa bienveillance et sa disponibilité.

A Monsieur PERDRIX

Pour avoir accepté de juger ce travail.  
Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

A tous les PROFESSEURS et ENSEIGNANTS de l'UFR de pharmacie de Grenoble  
auxquels nous devons notre formation universitaire.

Dis à celui qui dans la science,  
Prétend une certaine connaissance  
"Tu as appris une chose, or  
Beaucoup d'autres t'échappent encore".

A. NOUASS.

## SOMMAIRE

	Page
INTRODUCTION	8
I - DONNEES MYCOLOGIQUES	10
I - 1 - CHAMPIGNONS PRODUCTEURS D'OCHRATOXINES	10
I - 2 - STRUCTURE ET PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES DES OCHRATOXINES	12
I - 2 - 1 - Structure	12
I - 2 - 2 - Propriétés physicochimiques	15
I - 3 - FACTEURS FAVORISANT LA CROISSANCE FONGIQUE ET LA SYNTHÈSE D'OCHRATOXINE A.	15
I - 3 - 1 - La présence de souches toxigènes	16
I - 3 - 2 - La nature du substrat	16
I - 3 - 3 - Facteurs environnementaux	19
I - 4 - MATIÈRES PREMIÈRES ET ALIMENTS SUSCEPTIBLES D'ÊTRE CONTAMINÉS PAR LES OCHRATOXINES	21
I - 4 - 1 - Contamination végétale	22
I - 4 - 2 - Contamination des denrées d'origine animale	25
II - DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES	28
II - 1 - LES OCHRATOXICOSES ANIMALES	28
II - 1 - 1 - Néphropathie porcine mycotoxique	28
II - 1 - 2 - Néphropathie aviaire	30
II - 2 - LES OCHRATOXICOSES HUMAINES	30
II - 2 - 1 - La néphropathie endémique des Balkans	30
II - 2 - 2 - Néphropathie d'étiologie inconnue	38

III - ETUDE DE LA TOXICITE DES OCHRATOXINES	39
III - 1 - TOXICITE AIGUE	39
III - 2 - TOXICITE CHRONIQUE	42
III - 2 - 1 - Néphrotoxicité	42
III - 2 - 2 - Atteinte des organes lymphoïdes et hématopoiétiques	44
III - 2 - 3 - Tératogénicité	46
III - 2 - 4 - Cancérogénèse, mutagénicité, génotoxicité	47
III - 2 - 5 - Hépatotoxicité	50
III - 2 - 6 - Perturbation de l'hémostase	50
III - 2 - 7 - Perturbation de la croissance staturopondérale	51
III - 2 - 8 - autres atteintes	51
IV - MODE D'ACTION CELLULAIRE DE L'OTA	52
IV - 1 - EFFETS SUR LA SYNTHÈSE PROTÉIQUE	52
IV - 2 - EFFETS SUR LE MÉTABOLISME DE LA TYROSINE	56
IV - 3 - EFFETS SUR LE MÉTABOLISME GLUCIDIQUE	58
IV - 4 - ATTEINTE DE LA FONCTION MITOCHONDRIALE	60
IV - 5 - DOMMAGES OXYDATIFS	61
V - L'OCHRATOXINE A : PRESENCE CHEZ L'HOMME	64
V - 1 - ESTIMATION DE L'EXPOSITION HUMAINE A L'OTA	64
V - 1 - 1 - Dosages sanguins	66
V - 1 - 2 - Contamination alimentaire	70
V - 2 - EVALUATION DES RISQUES	72
V - 3 - FACTEURS DE RISQUE	75
V - 3 - 1 - Risques liés à la dose et à la durée d'exposition	75
V - 3 - 2 - Risques liés à l'âge	76
V - 3 - 3 - Risques liés au sexe	76
V - 3 - 4 - Risques liés à l'alimentation	76
V - 3 - 5 - Risques liés à des pathologies associées	78
V - 3 - 6 - Risques liés à l'association de plusieurs mycotoxines	78
V - 3 - 7 - OTA et xénobiotiques	79

VI - ELEMENTS DE PHARMACOCINETIQUE	82
VI - 1 - RESORPTION DE L'OTA ET SON DEVENIR SANGUIN	82
VI - 1 - 1 - Résorption gastrointestinale	82
VI - 1 - 2 - Transport sanguin	83
VI - 1 - 3 - Eléments de cinétique	83
VI - 2 - DISTRIBUTION TISSULAIRE DE L'OTA	85
VI - 3 - METABOLISME DE L'OTA	86
VI - 4 - VOIES D'ELIMINATION DE L'OTA ET DE SES METABOLITES	88
VI - 4 - 1 - Elimination dans les urines et les fécès	88
VI - 4 - 2 - Elimination biliaire	89
VI - 4 - 3 - Transfert placentaire de l'OTA	90
VI - 4 - 4 - Excrétion dans le lait et les oeufs	90
VII - MODULATION DE L'EXPOSITION A L'OTA CHEZ L'HOMME ET L'ANIMAL DOMESTIQUE	91
VII - 1 - LUTTE CONTRE LA PRESENCE D'OT DANS L'ALIMENTATION.	91
VII - 1 - 1 - Prévention de la contamination et de la croissance fongique	91
VII - 1 - 2 - Décontamination fongique et détoxification	93
VII - 2 - PREVENTION DES EFFETS TOXIQUES DE L'OTA	96
VII - 2 - 1 - Limiter l'absorption gastrointestinale de l'OTA	96
VII - 2 - 2 - Favoriser l'élimination de l'OTA	96
VII - 2 - 3 - Limiter les effets toxiques de l'OTA	97
VIII - DOSAGE	99
VIII - 1 - L'ECHANTILLONNAGE	99
VIII - 2 - EXTRACTION	99
VIII - 3 - PURIFICATION	100
VIII - 4 - CONFIRMATION DE L'IDENTITE	100
VIII - 5 - DOSAGE FINAL	101
VIII - 5 - 1 - Chromatographie sur couche mince	101
VIII - 5 - 2 - Chromatographie liquide haute performance	101
VIII - 5 - 3 - Méthodes immunologiques	101
VIII - 5 - 4 - Utilisation de la carboxypeptidase A	104

IX - REGLEMENTATION	105
CONCLUSION	108
BIBLIOGRAPHIE	109

## INTRODUCTION

Au sein du règne des champignons, les moisissures constituent un ensemble hétérogène d'environ 20.000 espèces.

Ce sont des champignons microscopiques filamenteux possédant la capacité de se développer sur des substrats nutritifs variés et tout particulièrement sur les denrées alimentaires : l'aliment contaminé moisit.

Le côté inesthétique de la présence fongique fut longtemps considéré comme le préjudice majeur. Pourtant, dès le Moyen-Age, des épidémies étaient fréquemment observées à cause du pain de seigle. La maladie était désignée sous divers noms : Mal des Ardents, Feu Sacré ou encore Feu de Saint-Antoine. On su au 19ème siècle qu'elle faisait, en fait, suite à l'utilisation de farines souillées par l'ergot de seigle, maladie cryptogamique.

En 1960, 100.000 dindons d'élevages britanniques mouraient après avoir consommé des farines contaminées par une espèce d'*Aspergillus*: *A. flavus*. Cette hécatombe confirma que le développement de moisissures nuisibles sur les aliments pouvait être associé à une synthèse de substances toxiques: les mycotoxines.

Contrairement aux aflatoxines mises en évidence à la suite de cette intoxication, la découverte des ochratoxines, mycotoxines produites en particulier par *Aspergillus ochraceus* résulte simplement d'une étude menée par des chercheurs sur des moisissures isolées à partir de céréales et de légumes en Afrique du Sud dans les années 60.

La découverte des aflatoxines présentant une activité cancérigène a conduit à considérer la place importante occupée par les mycotoxines dans la toxicologie animale et humaine .

## **I - DONNEES MYCOLOGIQUES**

Les ochratoxines sont des mycotoxines produites par diverses moisissures se développant principalement sur les produits céréaliers.

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires toxiques, synthétisés et excrétés dans le milieu dès la fin de la phase de croissance du champignon et durant toute la phase stationnaire. Le rôle de ces molécules pour la vie du champignon n'est pas connu, mais ce ne sont pas des déchets puisqu'elles ne sont pas synthétisées lorsque la croissance fongique est intense. (6)

L'ochratoxine A (OTA) fut isolée pour la première fois d'une culture d'*Aspergillus ochraceus* par des chercheurs sud-africains en 1965. (28)

### **I - 1 - CHAMPIGNONS PRODUCTEURS D'OCHRATOXINES.**

Les ochratoxines sont produites par des moisissures, micro-organismes pluricellulaires filamenteux.

Sur un substrat solide, la colonie fongique est constituée d'un réseau de filaments ou hyphes, appelé mycélium.

La marge de la colonie envahit le substrat alors que les régions centrales, plus âgées, donnent naissance à des organes de multiplication et de reproduction (6).

Les moisissures productrices d'ochratoxines appartiennent aux genres:

- *Aspergillus*
- *Penicillium*

Ce sont des champignons ubiquitaires, formant, avec le genre *Cladosporium*, la flore fongique commune (6).

En atmosphère non contrôlée, la contamination fongique par les *Aspergillus* et *Penicilli* est un risque permanent et pratiquement inévitable = les végétaux, les graines, les fruits sont naturellement contaminés puisqu'ils constituent le substrat naturel de ces

champignons(6).

En 1992, on recensait 9 espèces d'*Aspergillus* et 10 espèces de *Pénicilli* capables de synthétiser des ochratoxines (39):

- |   |   |
|---|---|
| - <i>A. ochraceus</i> ( <i>A. alutaceus</i> ) | - <i>P. verrucosum</i><br>( <i>P. viridicatum</i> ) |
| - <i>A. alliaceus</i>                         | - <i>P. chrysogenum</i>                             |
| - <i>A. elegans</i>                           | - <i>P. cyclopium</i>                               |
| - <i>A. fresenii</i>                          | - <i>P. expansum</i>                                |
| - <i>A. melleus</i>                           | - <i>P. palitans</i>                                |
| - <i>A. ostianus</i>                          | - <i>P. purpurescens</i>                            |
| - <i>A. petrakii</i>                          | - <i>P. nordicum</i>                                |
| - <i>A. sclerotiorum</i>                      | - <i>P. variable</i>                                |
| - <i>A. sulphureus</i>                        | - <i>P. verruculosum</i>                            |
|   | - <i>P. commune</i>                                 |

Il faut cependant noter qu' une souche fongique peut synthétiser plusieurs mycotoxines différentes. Ainsi, *A. ochraceus* synthétise l'ochratoxine A, mais également la citrinine, autre mycotoxine néphrotoxique(21).

Des données mycologiques indiquent que le genre *Pénicillium* est plus grand producteur d'ochratoxines que le genre *Aspergillus* (39).

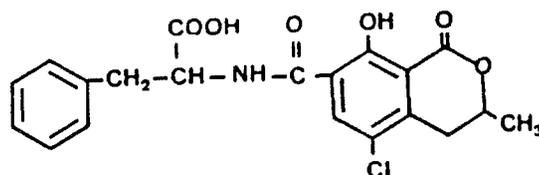
Les *Pénicilli*, avec *P. verrucosum*, prédominent dans les zones climatiques froides telles que la Scandinavie ou le Canada, tandis que les *Aspergillus* (principalement *A. ochraceus*) préfèrent les régions plus tempérées telles que l' Ex-Yougoslavie ou l'Australie(52).

## **I - 2 - STRUCTURE ET PROPRIETES** **PHYSICOCHEMISTIQUES DES OCHRATOXINES**

### **I - 2 - 1 - Structure (21, 39)**

Les ochratoxines (OT) appartiennent à une série de dérivés isocoumariniques associés par une liaison peptidique à la L- β phénylalanine.

L'ochratoxine A (OTA), ochratoxine la plus importante, se définit comme suit : 7-carboxy-5-chloro-8-hydroxy -3, 4-dihydro-3R-méthyl isocoumarine, liée par son carboxyle en 7 à une phénylalanine. (voir figure 1)



*Ochratoxine A*

**Figure 1** - Structure de l'OTA(21)

Les OT connues sont les suivantes (voir tableau 1)(39):

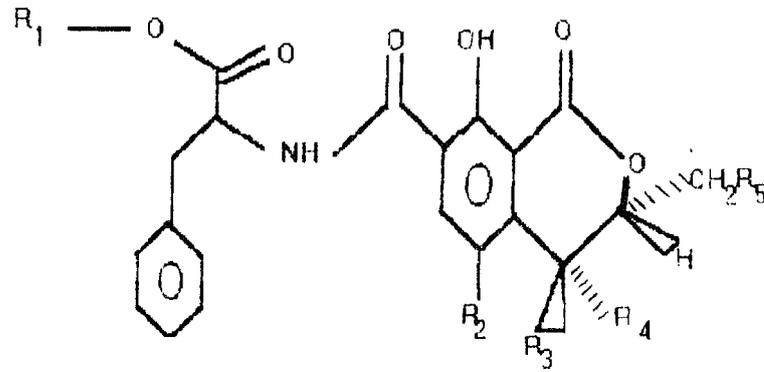
- ochratoxine A (OTA)
- ochratoxine B (OTB)
- ochratoxine C : ester éthylique de l'OTA
- ester méthylique de l'OTA
- ester éthylique de l'OTB
- ester méthylique de l'OTB
- ochratoxine α (OTα )
- ochratoxine β (OTβ)
- 4 - hydroxyochratoxine A
- 10 - hydroxyochratoxine A

L'OTA et l'OTB sont les plus fréquemment produites.

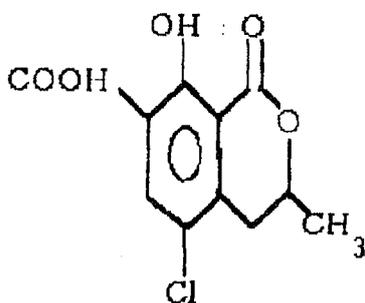
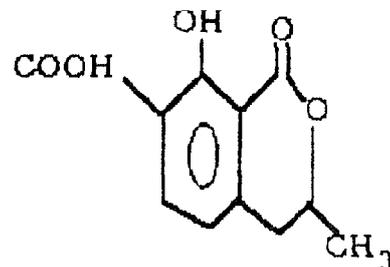
L'OTA est de loin le contaminant majeur et le plus toxique.

Les autres OT sont des métabolites ou des produits d'excrétion découverts dans cultures fongiques ou dans des tissus d'origine animale. (39)

Récemment, a été rapportée l'existence naturelle d'analogues de l'OTA pour lesquels la phénylalanine est remplacée par la sérine, la lysine ou l'hydroxyproline. (33)



R1	R2	R3	R4	R5	NOM
<b>Groupe A.</b>					
H	CL	H	H	H	OCHRATOXINE A
H	H	H	H	H	OCHRATOXINE B
C2H3	CL	H	H	H	OCHRATOXINE C
CH3	CL	H	H	H	ESTER METHYLIQUE DE L'OTA.
CH3	H	H	H	H	ESTER METHYLIQUE DE L'OTB.
C2H5	H	H	H	H	ESTER ETHYLIQUE DE L'OTB.
<b>Groupe B.</b>					
Voir ci- dessous					OCHRATOXINE $\alpha$
Voir ci- dessous					OCHRATOXINE $\beta$
H	CL	H	OH	H	4 R-HYDROXY OTA
H	CL	OH	H	H	4 S-HYDROXY OTA
H	CL	H	H	OH	10- HYDROXY OTA

Ochratoxine  $\alpha$ Ochratoxine  $\beta$ 

**Tableau 1** - Structure des ochratoxines  
(groupe A = ochratoxines naturelles et métabolites issus  
de cultures fongiques, groupe B : métabolites ou produits  
d'excrétion découverts chez les animaux)

### I - 2 - 2 - Propriétés physicochimiques (43)

Les OT se présentent sous forme de cristaux incolores, obtenus par cristallisation de solutions benzéniques.

Le point de fusion de l'OTA est de 90°C.

Elles sont solubles dans les solvants organiques polaires, peu solubles dans l'eau, solubles dans les solutions aqueuses de bicarbonate de sodium.

Des propriétés acides leur sont conférées par les fonctions phénolique substituée en 8 et carboxylique de la phénylalanine (52).

Exposées aux rayons U.V longs, elles émettent une fluorescence caractéristique, verte pour l'OTA.

Elles peuvent être conservées dans l'éthanol, au réfrigérateur, pendant plus d'une année, mais ces solutions doivent être protégées du rayonnement U.V pour éviter leur décomposition.

Dans les produits céréaliers où on les rencontre, les toxines restent stables pendant plusieurs semaines (71).

### **I - 3 - FACTEURS FAVORISANT LA CROISSANCE FONGIQUE ET LA SYNTHÈSE D'OCRATOXINE A**

Les conditions naturelles favorisant la prolifération des moisissures et la production d'OTA par celles-ci, sont aujourd'hui bien connues.

D'une façon générale, pour qu'il y ait synthèse de mycotoxines, il faut (71):

- La présence effective d'un champignon toxigène.
- Un substrat favorable à la croissance de ce champignon.
- Un environnement favorable.

### I - 3 - 1 - La présence de souches toxigènes .

En l'absence de moisissures toxigènes, il ne peut y avoir production de mycotoxines.

Cependant, toutes les lignées d'une espèce réputée toxigène ne possèdent pas les chaînes métaboliques permettant d'élaborer des toxines : les mycotoxines sont des métabolites secondaires et ne font pas partie des caractères permanents des espèces (22).

Ainsi, une étude menée par K.K SINHA en Inde nous montre que sur 34 souches d'*A. ochraceus* isolées à partir de maïs, seulement 8 souches produisaient de l'OTA (69).

La présence de germes en abondance n'est donc pas synonyme de présence de toxines.

D'autre part, les toxines peuvent persister dans l'environnement alors que le champignon a disparu, du fait de leur grande stabilité (71).

### I - 3 - 2 - La nature du substrat (6, 7, 21)

Les champignons peuvent se développer sur des substrats très variés (les aliments en général, les matières premières végétales) mais certains sont plus favorables que d'autres à la croissance fongique et à l'élaboration de toxines.

#### - influence de l'état physique du substrat (21).

De manière générale, les petits grains tels que l'avoine, le blé, le seigle, le riz sont moins facilement contaminés que les gros grains comme le maïs ou l'arachide : un produit peu compressible laisse un espace interstitiel important, donc un volume gazeux riche en oxygène favorable au développement des moisissures.

D'autre part, un produit broyé, même grossièrement est plus facilement envahi par les moisissures.

- influence de la composition chimique du substrat.

Un substrat, pour être propice au développement des moisissures doit non seulement renfermer des substances carbonées et azotées assimilables, mais il doit, en outre, les renfermer en proportions convenables (6).

R.R. MARQUARDT rapporte que les graines de céréales (blé, maïs) sont de meilleurs substrats pour la production d'OTA par *P. verrucosum* tandis que ce sont les huiles végétales (de soja, d'arachides) pour *A. ochraceus* (52).

La production de toxines est favorisée par un taux élevé de protéines (orge), d'acide glutamique, de proline ou de cystéine (7).

La caféine aurait un effet inhibiteur sur le développement fongique et/ou la synthèse de toxines : les grains verts de café sont généralement faiblement contaminés (7).

Mais le saprophytisme des moisissures ne peut être mis en oeuvre que si le milieu contient de l'eau libre.

- Influence de la teneur en eau libre du substrat (6).

Sans eau libre, il ne peut y avoir diffusion des exoenzymes fongiques dans l'environnement, ni celles des molécules simples issues de la dégradation du substrat vers l'intérieur de la cellule fongique.

La quantité d'eau disponible dans l'aliment est appelée activité en eau ( $a_w$ ).

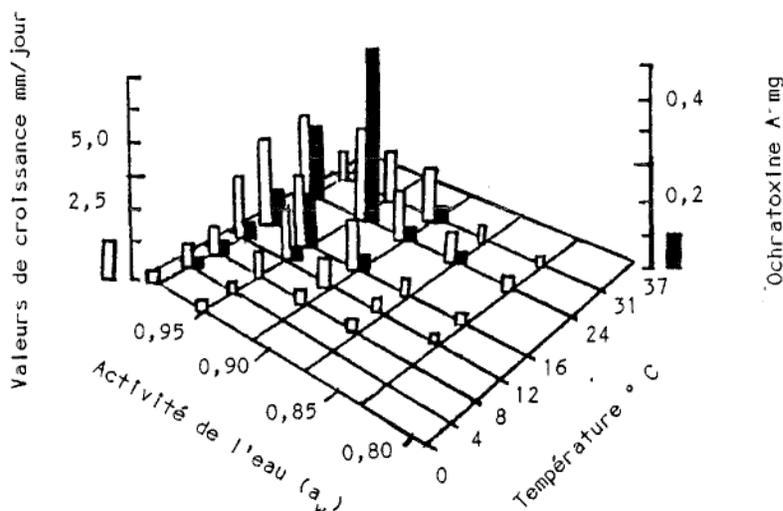
L' $a_w$  d'un aliment dépend de ses caractéristiques chimiques, c'est-à-dire de l'eau retenue par les sels, sucres et protéines, et de ses caractéristiques physiques (porosité, polarité).

Il existe une relation directe entre l'humidité relative atmosphérique et l' $a_w$  d'une denrée.

L' $a_w$  dépend donc des conditions climatiques prévalant lors de la croissance du végétal, lors de sa récolte ainsi que du taux d'humidité régnant dans le lieu de stockage.

La plupart des champignons se développent à des  $a_w$  voisines de 0,85.

Pour *P. verrucosum*, une  $a_w$  supérieure à 0,83 est nécessaire à sa croissance alors que la production d'OTA n'apparaît que pour des valeurs d' $a_w$  supérieures à 0,87 (voir figure 2).



**Figure 2** - Croissance et production d'OTA par *P. verrucosum* sous différentes conditions d' $a_w$  et de température (7).

Mais les valeurs optimales d' $a_w$  pour le développement de la moisissure et la synthèse de toxines varient avec la température ambiante (52).

A 24°C, elle est de 0,95 pour *P. verrucosum*.

Une hausse d' $a_w$  permet la croissance du champignon à des températures plus basses.

#### - Influence du pH des aliments (6).

Les champignons sont beaucoup plus tolérants que les bactéries en ce qui concerne le pH. La plupart des champignons se développent normalement à des pH compris entre 3 et 8, leur croissance optimale étant cependant obtenue pour des pH variant de 5 à 6.

En raison de leur acidité (pH <6), les légumes, les fruits et la viande sont beaucoup plus exposés à une altération fongique que bactérienne.

### I - 3 - 3 - Facteurs environnementaux

#### - Influence de la température

Elle joue avec l' $a_w$  un rôle capital.

La plupart des champignons se développent à des températures comprises entre 0°C et 4°C avec un optimum à 20 - 30°C (6).

En général, les températures optimales de production de toxines sont celles de croissance, avec cependant pour certains champignons un décalage (exemple : *A. ochraceus*.) (21).

Contrairement au genre *Aspergillus*, le genre *Penicillium* préfère des températures plus basses pour sa croissance et la synthèse de mycotoxines. Ainsi, *P. expansum* et *P. verrucosum* peuvent se développer lentement à des températures inférieures à 4°C (6).

La production d'OTA par *A. ochraceus* apparaît à des températures comprises entre 12 et 37°C, pour *P. verrucosum* entre 4 et 31°C (52).

#### - Influence de la teneur en gaz. (21).

Les moisissures ont besoin d'oxygène pour une croissance normale, elles sont aérobies : une teneur en O<sub>2</sub> (oxygène) inférieure à 1% empêche le développement fongique.

De même, un accroissement de la teneur en CO<sub>2</sub> (gaz carbonique) du milieu diminue la prolifération du champignon, un taux supérieur à 60% l'inhibe.

### - Influence du climat

Les conditions climatiques déterminent les facteurs température et humidité et ont ainsi une influence profonde sur la présence et la croissance des champignons (21).

Une étude canadienne menée par A.A. FROHLICH a montré que la croissance fongique sur des céréales stockées prévalait au printemps et au début de l'été, quand température et humidité sont favorables au développement des moisissures et donc à la production de mycotoxines(27).

### - Influence de la flore compétitive.

R.R. MARQUARDT a montré que la production d'OTA par *A. ochraceus* sur de l'orge stérilisé, était plus importante que sur de l'orge non soumis à stérilisation; cette production est supprimée lors de la réintroduction d'une flore compétitive non productrice d'OTA (52).

A été rapportée une compétition entre *A. flavus* (producteur d'une mycotoxine appelée aflatoxine) et *A. ochraceus*. La présence de ces deux champignons conduit vers la production d'aflatoxines essentiellement, les ochratoxines sont très peu produites ou totalement absentes. Ce phénomène peut s'expliquer par le fait que dans la biogénèse des aflatoxines, *A. flavus* utilise la phénylalanine du support sur lequel il se développe. Lorsqu'il est plus abondant, il détournerait à son seul profit toute la phénylalanine; l'OTA, un analogue de la phénylalanine ne pourrait alors être produite (11).

### - Influence des méthodes de culture.

*Aspergilli* et *Penicilli* sont des champignons dits "de stockage", c'est-à-dire se développant sur du matériel engrangé, principalement les céréales (71).

Cependant, on pense que ces champignons sont présents sur les grains de céréales avant leur récolte mais en très faible proportion. Après la récolte, la manipulation des grains est source de contamination supplémentaire (par les poussières, fragments de végétaux, débris d'insectes, terre, chocs mécaniques détériorant les grains, les rendant plus sensibles à la contamination) (39).

D'autres facteurs intervenant durant la croissance du végétal sont aujourd'hui connus pour fragiliser les plantes et favoriser la pénétration du champignon. Il s'agit des stress climatiques (comme l'alternance de périodes de sécheresse et d'humidité excessives), des déficits nutritionnels en minéraux, des blessures par les insectes et les oiseaux (6).

D'autre part, les conditions technologiques de séchage et de stockage sont importantes. Dans les pays en voie de développement et ceux du tiers-monde, grands producteurs de céréales, où ces conditions sont précaires, les taux de contamination fongique sont élevés.

Toute fluctuation de température durant le stockage peut engendrer, par condensation, une élévation d' $a_w$  localisée et ainsi une prolifération fongique ponctuelle (39).

La durée de stockage doit également être prise en compte.

K.K SINHA nous montre que dans la région de Bihar, en Inde, 19% des échantillons de maïs étudiés étaient contaminés par *A. ochraceus* juste après la récolte; 26% l'étaient après 10 mois de stockage (69).

Ainsi, température et humidité sont les deux facteurs à retenir. Sur tous les continents, à un moment de l'année ou à un autre, les conditions sont favorables au développement fongique et à l'élaboration de toxines. Ceci explique le fait que l'on retrouve l'OTA partout dans le monde.

#### **I - 4 - MATIERES PREMIERES ET ALIMENTS SUSCEPTIBLES D'ETRE CONTAMINES PAR LES OCHRATOXINES.**

Les ochratoxines constituent un véritable fléau, contaminant végétaux et animaux.

La première découverte d'ochratoxines s'est faite dans des aliments destinés au bétail (65).

L'OTA est le contaminant majeur, l'OTB n'étant décelée que très rarement (43).

### I - 4 - 1 - Contamination végétale (19, 71, 80).

Les moisissures synthétisant les ochratoxines se développent essentiellement sur les grains de céréales : (voir tableau 2) .

- |                  |          |
|------------------|----------|
| - Orge (surtout) | - Seigle |
| - Maïs           | - Riz    |
| - Blé            | - Sorgho |
| - Avoine         | - Mil    |

On peut donc retrouver ces toxines dans leurs dérivés :

- Bière
- Farines
- Pain
- Pâtisseries

Elles peuvent également contaminer :

- Les graines d'oléagineux : arachides, soja
- Les grains de café
- Les grains de haricots blancs et flageolets (73)
- Les fruits secs : noix de coco, raisin, amandes, noix, noix de cajou, pistaches, noisettes (18)
- Les fèves
- Les fèves de cacao
- Les huiles végétales vierges (de tournesol ...)
- Les épices : poivre noir, coriandre, fenouil, cumin (18)
- Le tapioca
- Les figues
- La pulpe de betterave à sucre
- La pulpe de citron.
  
- Le foin, la luzerne (70)
- Le sol

Contamination naturelle d'aliments d'origine végétale  
par l'ochratoxine A

Continent Pays	Produits	% de contamination	Concentration d'OTA (µg/kg)
<b>Afrique</b>			
Maroc	* olives noires	7	40-80
	* huile d'olive	5	40-80
Togo	* café vert	2	1-5
Tunisie	* maïs importé	-	1-30
	* couscous	-	1-30
	** aliments mixtes	-	1-30
Ouganda	* café vert	5	1-23
<b>Amérique</b>			
Canada	* blé de printemps	-	1-100
	** blé, foin	7,4	30-6 000
	** blé, avoine,		
	orge, riz	55,3	30-27 000
	** aliments mixtes	1,1	30-100
	** aliments mixtes	7,8	48-5 900
U.S.A.	* maïs	1,0	83-166
	* blé d'hiver	1,0	5-115
	* blé de printemps	2,8	5-115
	* orge	12,6	10-29
	* orge	14,2	10-40
	* grains de café	7,1	20-360
<b>Asie</b>			
Japon	* riz	-	230-430
Inde	* maïs	-	30-50
	* blé	8,0	30-50
	* graines d'arachide	11,0	50-200
	** sorgho	12,5	50-70
<b>Europe</b>			
Autriche	* maïs	12,0	1-335
Belgique	* rognons de porc	-	-
Bulgarie	* maïs	27,0	25-35
Danemark	* orge	6,0	9-189
	* grain (blé, riz)	1,3	15-50
	* son	10,5	5-20
	** orge, avoine	57,6	28-27 500
France	* maïs (1973)	2,6	15-200
	* maïs (1974)	1,3	20-200
Grande-Bretagne	* pain	2,0	710
	* farine	28,5	490-2 900
	* maïs	37,9	50-500
	* farine de maïs	30,8	50-200
	* soja	36,0	50-500
	* farine de soja	19,0	50-500
	* fèves de cacao crues	17,9	100-500
	* fèves de cacao grillées	15,8	100
Italie	* maïs	35,0	0,1-1
Pologne	* grains (orge, blé, riz)	6,8	18-22
	** orge, blé, avoine,		
	riz, maïs	5,3	50-200
	** aliments mixtes	4,9	10-50
R.F.A.	* maïs	13,0	13-39
R.D.A.	* grain	4,1	18-22
Suède	* haricots	8,5	10-442
	* pois	2,8	10
	** orge, avoine	8,3	16-409
U.R.S.S.	* orge	2,1	3 800
	** orge	100	3 800
Tchécoslovaquie	* orge	2,1	3 800
Yougoslavie	* maïs	8,3	6-140
	* froment	18,8	-
	* orge	12,5	14- 27
	* blé	8,2	14-135
	** maïs	25,7	45-5 125
<b>Océanie</b>			
Australie	** aliments mixtes	4,0	70 000

Tableau 2 -

(19)

Ces mycotoxines sont largement distribuées dans le monde, ainsi, on a pu les mettre en évidence en :

- Afrique : Sénégal, Maroc...
- Amérique : USA, Canada
- Asie : Inde, Japon
- Europe : France, Allemagne, Grande-Bretagne,  
Danemark, Pologne, Bulgarie,  
Ex-Yougoslavie, Suède, Italie.

En Pologne, l'examen des grains de céréales, entre 1966 et 1987, révéla la présence d'OTA dans 158 échantillons sur 353 avec des taux d'OTA compris entre 0,005 et 2,4 mg/kg (32).

L'orge, céréale la plus fréquemment infectée semble le vecteur le plus important d'OTA. Il en résulte un risque de transmission de cette toxine dans la bière (19).

Une étude menée en 1989 en Allemagne nous montre que 25% des échantillons d'orge étudiés étaient contaminés (80).

En Ex-Yougoslavie, 8,3% du maïs destiné à l'alimentation humaine renferme de l'OTA à une concentration comprise entre 6 et 140 µg/kg. Celui destiné à l'alimentation animale est contaminé à hauteur de 27% , à des concentrations de toxine pouvant atteindre 5 125 µg/kg (19).

Ainsi, fréquence et taux de contamination sont plus élevés pour les céréales destinées aux animaux.

Il faut noter que la répartition des toxines dans les lots étudiés est hétérogène. En effet, au niveau des grains de céréales, c'est l'enveloppe qui est la plus riche en toxine. Son élimination après broyage des grains permet de diminuer significativement le taux de toxine des farines mais pose un problème sanitaire nouveau lorsque le son est récupéré pour l'alimentation du bétail (6).

E.E. CREPPY rapporte également de fortes variations saisonnières dans la contamination des céréales, correspondant aux conditions climatiques pendant la récolte et les périodes de stockage (19).

Il existe également de grandes fluctuations entre pays : ce sont les pays de l'Europe du Nord et des Balkans qui sont le plus touchés.

En conclusion, bien que la contamination végétale soit fréquente, les concentrations d'OTA mises en évidence sont généralement faibles.

#### I - 4 - 2 - Contamination des denrées d'origine animale

En raison de l'importance de la contamination végétale, l'atteinte des animaux d'élevage paraît inévitable. Des résidus d'OTA ont en effet été décelés dans divers tissus d'animaux infectés, à des concentrations non négligeables.

Mais la contamination des denrées d'origine animale peut également se faire de façon directe, par un champignon toxigène (21).

Les résidus d'OTA ne sont généralement pas retrouvés chez les ruminants qui possèdent au niveau de leur tube digestif, les micro-organismes capables d'hydrolyser l'OTA en OT $\alpha$  non toxique (43).

Cependant, de faibles taux d'OTA ont été décelés dans les reins de jeunes veaux nourris de céréales contaminées, ainsi que dans des échantillons de lait de vache ( 5 échantillons sur 36, avec des taux variant de 10 à 40 ng/ml) (12).

D'autre part, chez les poissons, l'absorption intestinale d'OTA et sa demie-vie sanguine étant faibles, le problème des résidus dans leur chair ne se pose pas (28).

Chez les volailles, des résidus d'OTA ont été détectés dans les reins, le foie, les muscles, la graisse, la peau et le sang (39).

En ce qui concerne les oeufs, la présence de toxine reste controversée. En 1982, a été menée une étude sur 2 populations de poules P1 et P2 , nourries de céréales contaminées à des taux respectifs de 2,5 et 10 mg/kg. Seuls les oeufs des poules du groupe P2 renfermaient de l'OTA (43).

En 1988, FUCHS nous montre qu'avec une nourriture moins infectée, des résidus d'OTA sont retrouvés. Il explique cette divergence par la difficulté à extraire la toxine, du fait de sa forte liaison aux protéines des oeufs (28).

La littérature rapporte que peu d'OTA est retrouvée au niveau du blanc de l'oeuf mais qu'elle se concentre principalement dans le jaune.

Mais la contamination la plus souvent mentionnée reste celle des denrées porcines.

D'après HOLMBERG, 25 à 75 % de l'OTA contaminant l'alimentation se retrouve dans le sang, 2,5 à 5 % dans les reins, 1 à 2 % dans la masse musculaire et le foie, et moins de 1% dans le tissu grasseux (39).

L'OTA a été décelée dans le sang de porc dans de nombreux pays : Canada, Allemagne, Suède, Japon.

Lors d'une étude canadienne, 36% des prélèvements de sang collectés sur 1 an, renfermaient de l'OTA à une concentration moyenne de 12,3 ng/ml (52).

En Allemagne, 58 échantillons de boudin sur les 325 testés étaient contaminés à un taux moyen de 0,015 µg/kg (25).

L'ensemble des études menées en Europe nous montrent que 21 à 42 % des reins de porcs soupçonnés de néphropathie contiennent des résidus d'OTA à des taux variant de 1 à 100µg/kg (34) ( voir tableau 3).

PAYS	NOMBRE DE REINS EXAMINES	REINS CONTENANT DE L'OTA (en %)	TAUX D'OTA (en µg/Kg)
BELGIQUE	385	18	0.2-12
ALLEMAGNE	104	21	0,1-1,8
HONGRIE	122	39	2-100
POLOGNE	122	42	1-10
SUEDE	90	27	2-88

**Tableau 3-** Résidus d'OTA dans des reins de porcs atteints de néphropathie porcine (d'après inspection vétérinaire) (34).

Des champignons producteurs d'OTA ont également été détectés à la surface de divers produits de charcuterie mal conservés : jambons fumés, saucisses, saucissons et de fromages à pâte dure (21).

Ainsi, les céréales, par l'importance de leur culture, de leur apport alimentaire dans le monde, constituent un vecteur extrêmement important.

A un moindre degré, il en est de même pour la viande de porc, principale viande consommée dans les pays du Nord et de l'Est de l'Europe.

## **II - DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES**

### **II - 1 - LES OCHRATOXICOSES ANIMALES**

#### II - 1 - 1 - Néphropathie mycotoxique porcine (NPM)

Mise en évidence pour la première fois au Danemark en 1928 par LARSEN, une corrélation fut rapidement établie entre l'apparition de cette maladie et l'ingestion de graines alimentaires contaminées par des mycotoxines. KROGH en 1973 montra qu'il s'agissait de l'OTA(34).

De nos jours, des cas de néphropathie porcine sont régulièrement rencontrés dans les abattoirs danois ainsi que dans d'autres pays européens (Allemagne, Hongrie, Pologne, Ex-Yougoslavie, Grande-Bretagne, Finlande, Suède, Norvège)(52).

Le diagnostic est basé sur l'aspect des reins à l'abattage et la présence de résidus d'OTA(34).

\* Signes morphologiques : (34, 52, 80)

- augmentation de la taille du rein
- reins pâles
- surface du rein lisse

\* Signes cliniques :

- polyurie, polydipsie, refus alimentaire
- amaigrissement

\* Signes histopathologiques :

- dégénérescence des tubules rénaux proximaux
- fibrose interstitielle péritubulaire et périglomérulaire
- hyalinisation des glomérules.

Au Danemark (34), la maladie est endémique. Lors des contrôles vétérinaires, les carcasses de porcs atteints de néphropathie et présentant des taux rénaux d'OTA supérieurs à 25 µg/kg sont évincées. Il existe en fait des différences très sensibles d'une année à l'autre et d'une région à une autre, les accès étant associés aux conditions climatiques défavorables à la moisson, au stockage des céréales sous haute humidité.

Le tableau 4 nous montre, de 1980 à 1982, une diminution du nombre de cas de néphropathie porcine. Ceci s'explique par la mise en place de meilleures techniques de récolte et de stockage des céréales par les fermiers souffrant des pertes financières occasionnées par la maladie. Pourtant, en 1983, l'incidence de la néphropathie s'est élevée, mais elle s'est avérée très localisée à une région du pays où de mauvaises conditions climatiques prévalaient lors de la moisson de 1982.

ANNEE	NOMBRE DE PORCS ABATTUS (millions)	NOMBRE DE REINS ATTEINTS DE NEPHROPATHIE, ANALYSES	CARCASSES DETRUITES	
			nombre	%
1980	14,35	6845	1725	25
1981	14,48	7645	841	11
1982	14,28	2336	229	10
1983	14,99	7639	2190	29
1984	14,55	1298	128	10
--	--	--	--	--
--	--	--	--	--
1990	15,93	3138	128	4

**Tableau 4** - Prévalence de la néphropathie porcine et taux de condamnation des carcasses au Danemark, 1980-1990 (34).

En Europe, B. HALD affirme que 21 à 42 % des reins de porcs suspectés d'être atteints de NPM contiennent de l'OTA à des taux variant de 1 à 100 µg/kg (34).

Mais il faut noter qu'un porc malade nourri de céréales non contaminées quelques jours avant l'abattage aura un taux d'OTA abaissé. D'autre part, il est possible que d'autres mycotoxines néphrotoxiques (citrinine ...) soient impliquées dans la NPM. Ceci pourrait expliquer le fait que l'OTA ne soit pas retrouvée dans tous les reins malades (34).

## II - 1 - 2 - Néphropathie aviaire (52)

La néphropathie aviaire a été, pour la première fois, mise en évidence dans un élevage de dindes.

Les volailles atteintes avaient une croissance ralentie et refusaient de s'alimenter.

Un examen histopathologique a révélé une nécrose des tubes proximaux.

R.R.MARQUARDT rapporte également des cas d'ochratoxicoses dans des élevages de poules pondeuses, de poulets, aux Etats-Unis.

## II - 2 - LES OCHRATOXICOSES HUMAINES

### II - 2 - 1 - La néphropathie endémique des Balkans (NEB)

\* Historique (21, 74):

Dans les années 1952-54, une nouvelle maladie rénale fut décrite dans la région de Vratza en Bulgarie. Depuis, cette maladie a été localisée, de façon endémique, dans plusieurs régions des Balkans : en Roumanie, en Ex-Yougoslavie et en Bulgarie.

Celle-ci était semblable à celle trouvée au Danemark chez des porcs ayant ingéré des céréales fortement contaminées par l'OTA; on en a déduit, un peu rapidement peut-être, qu'elle avait pour origine l'ochratoxine des aliments.

Elle porte le nom de néphropathie endémique des Balkans (NEB), il s'agit d'une néphropathie tubulo-interstitielle, maladie rénale chronique évoluant vers l'insuffisance rénale.

\* La NEB se manifeste par : (45, 64, 75, 81)

- Signes cliniques :

- . aspect cuivré de la paume et de la plante des pieds
- . asthénie
- . céphalées
- . anorexie, amaigrissement
- . polyurie
- . insuffisance rénale

- Signes morphologiques :

- . réduction importance de la taille et du poids des reins (voir figure 3 -1)
- . contours lisses
- . coloration grise pâle
- . zone corticale réduite

- Signes biologiques :

- . anémie normocytaire normochrome : considérée comme l'un des premiers signes de la maladie, essentielle au diagnostic.
- . urémie
- .  $\beta_2$  microglobulinémie
- . protéinurie
- . augmentation des taux d'immunoglobulines G et M

- Signes histopathologiques : (voir figures 3 -2 et 3 - 3)

- . fibrose interstitielle : très marquée dans les couches profondes du cortex.
- . hyalinisation glomérulaire : avec baisse consécutive de la clairance à l'inuline.
- . dégénérescence de l'épithélium tubulaire avec desquamation : principalement au niveau des tubes proximaux, avec perte de leur bordure en brosse et amincissement de la membrane basale.

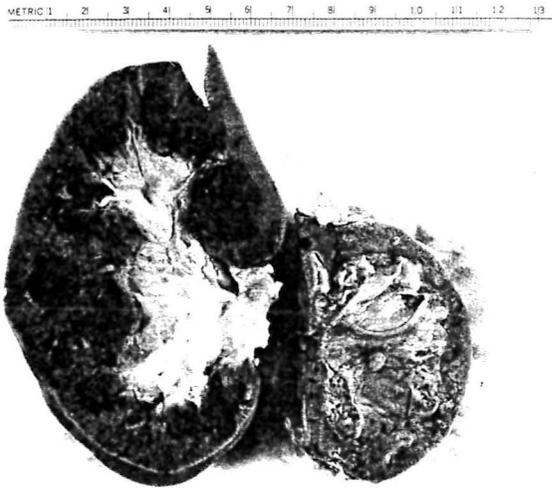


Figure 3-1- Rein provenant d'un patient au stade avancé de NEB (à droite); un rein normal (à gauche) (8).

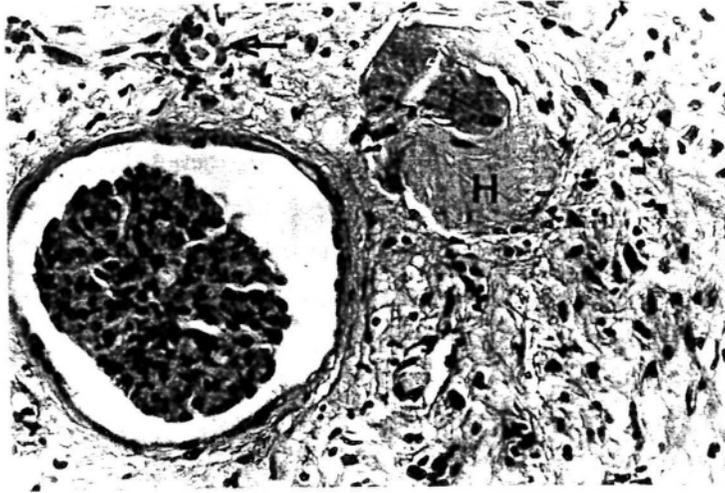


Figure 3-2- Cortex rénal d'un patient au stade avancé de NEB (noter la hyalinisation incomplète du glomérule (H) situé près d'un glomérule normal ne portant pas de formation en croissant. La flèche indique un tubule très dégénéré avec un matériel protéinique dans la lumière) (10x40). (81)



Figure 3-3- Même section (10x20)  
(Noter le matériel amorphe acellulaire comprenant les tubules; la majorité des tubules dégénérant). (81)

\* Données épidémiologiques

La Bulgarie, l' Ex-Yougoslavie, la Roumanie sont les 3 pays où la NEB est présente de façon endémique, dans des villages situés le long de grands fleuves (28).

Etant donné qu'il n'y a pas de critères cliniques précis permettant le diagnostic de la NEB, les données concernant la prévalence et l'incidence sont basées sur des résultats biologiques (protéinurie d'étiologie inconnue, créatininémie > 133 µmol/l, anémie) et sur l'historique de la famille (16).

On estime à 20.000 le nombre de personnes malades ou suspectées de l'être.

La population à risque dans les 3 pays où la maladie est endémique est de plus de 100.000 personnes (28).

Des données plus précises concernant une zone endémique en Ex-Yougoslavie (regroupant 10.000 personnes réparties en 14 villages) évaluent la prévalence des personnes malades entre 0,4 et 8,3 % ,l'incidence entre 1 et 2,4‰ mentionnant un léger déclin depuis les années 80 (voir tableau 5) (16).

PERIODE	POPULATION A RISQUE	NOUVEAUX CAS	
		NOMBRE	‰
1957 - 1966	11235	193	1,72
1967 - 1976	10717	252	2,35
1977 - 1986	10094	179	1,77
1987 - 1990	10094	42	1,04

**Tableau 5** - Incidence de la NEB (données hospitalières) (16).

Le taux de mortalité peut y atteindre 2,7 ‰ dans les villages hyperendémiques.

Plus généralement, il est estimé par l'OMS à 1-3 ‰ par an pour toute la région des Balkans (66).

La NEB touche à 85 % des personnes de plus de 30 ans et 51 % des malades ont entre 41 et 60 ans. De plus, selon Z. RADOVANOVIC, la population des malades tend à vieillir.

La durée de la maladie s'allonge : le nombre moyen d'années s'écoulant entre le diagnostic et la mort du malade était de 0,6 à la fin des années 50; il est de 5,6 à la fin des années 80 : ces malades bénéficient de plus en plus des techniques d'hémodialyse (66, 75).

S. CEOVIC affirme que les femmes sont plus touchées que les hommes en Ex-Yougoslavie (3 femmes pour 2 hommes) (16). Z. RADOVANOVIC explique ceci par un problème de diagnostic : d'une façon générale, anémie et protéinurie sont plus fréquentes chez la femme (66). Mais une étude concernant les altérations chromosomiques observées dans des lymphocytes de patients atteints de NEB a révélé que le chromosome X est significativement plus impliqué que le chromosome Y ou les autosomes (51).

La NEB affecte essentiellement une population rurale, selon une distribution familiale. En effet, la plupart des sujets faisant l'objet des études épidémiologiques possèdent des antécédants familiaux. Cependant, aucune différence liée aux habitudes alimentaires, conditions d'hygiène, niveau socio-économique n'a été révélée; toute personne résidant plus de 10 ans dans une région d'endémie est susceptible de développer une NEB (16, 66, 74).

D'autre part, a été mise en évidence une relation entre la NEB et l'apparition de tumeurs urinaires. Une étude menée sur les années 80 en Ex-Yougoslavie montre que les tumeurs urinaires sont plus fréquentes dans les régions endémiques. Parmi celles-ci, les tumeurs de l'uretère et du bassinet, généralement rares, prévalent puisqu'elles représentent, dans ces régions, 50 % des tumeurs urinaires (voir tableau 6) (16).

Ce sont généralement des tumeurs malignes et multiples, ne touchant qu'un des deux reins (72).

ZONE	REIN	BASSINET	URETERE	VESSIE
ENDEMIQUE	16,1	25,8	24,2	33,9
NON ENDEMIQUE	21,4	3,6	8,9	66,1

**Tableau 6** - Distribution (%) des différentes tumeurs du tractus urinaire en zones endémique et non endémique (16).

Il semblerait donc que la NEB et ces tumeurs urinaires aient une étiologie commune.

\* Etiologie possible de la NEB : l'OTA.

Durant ces 30 dernières années, diverses hypothèses ont vu le jour pour tenter d'expliquer l'étiologie de cette maladie.

L'eau a fréquemment été considérée comme liée à la NEB mais hormis le fait que les villages endémiques sont localisés le long de grands fleuves, aucune autre relation n'a pu être mise en évidence (des analyses n'ont pas décelé la présence d'agents chimiques ou autre, néphrotoxiques) (28).

Une étiologie virale a été proposée mais non vérifiée (28).

L'hypothèse d'une maladie génétique a été réfutée après une étude menée par S. CEOVIC en Ex-Yougoslavie : la NEB affecte divers groupes ethniques (16).

La corrélation entre la présence de moisissures dans l'environnement de l'homme et la NEB a été suggérée pour la première fois par DIMITROV en 1960. Puis KROGH en 1973 évoqua les similitudes existant entre la néphropathie porcine et la NEB et l'implication d'une exposition excessive à l'OTA (28).

Depuis, les études menées ont montré :

- Que l'OTA est retrouvée plus fréquemment et en plus grande quantité dans les produits alimentaires des zones d'endémie de NEB par rapport aux zones où la maladie ne sévit pas. Ainsi, en 1990, 44 % des échantillons de maïs testés contenaient de 25 à 890 µg/kg d'OTA dans les régions endémiques contre 5 % et 20 à 235 µg/kg dans les régions non endémiques (60).

- De grandes similitudes entre néphropathie porcine et NEB : (voir tableau 7) (28).

	HOMME	PORC
<b>Signes cliniques</b>	- polyurie	- polyurie, polydipsie
<b>Aspects macroscopiques du rein</b>	- diminution de la taille du rein - surface lisse - rein pâle	- augmentation de la taille du rein - surface lisse - rein pâle
<b>Aspects microscopiques du rein</b>	- dégénérescence tubulaire - hyalinisation glomérulaire - fibrose interstitielle	- dégénérescence tubulaire - hyalinisation glomérulaire - fibrose interstitielle

**Tableau 7** - Comparaison des symptômes cliniques et des lésions rénales développés chez l'homme et l'animal au cours des ochratoxicoses.

- L'OTA est plus souvent présente, et à des concentrations supérieures, dans le sang de patients atteints de NEB et/ou de tumeurs du tractus urinaire que chez les personnes saines, qu'elles vivent en zone endémique ou non (61).

- L'animal de laboratoire traité par l'OTA, à long terme, présente des tumeurs rénales (19).

- Une étude cytogénétique a montré que les lymphocytes de patients atteints de NEB présentent significativement plus d'aberrations chromosomiques que les lymphocytes de personnes résidant en zone non endémique. Le traitement de lymphocytes normaux, *in vitro*, avec de l'OTA, reproduit le même type d'anomalies chromosomiques (51).

Cependant, plusieurs scientifiques veulent nuancer, voire réfuter cette étiologie de la NEB et des tumeurs urinaires associées à cette maladie.

B. HALD évoque le rôle conjoint d'autres mycotoxines néphrotoxiques connues : citrinine (cométabolite de l'OTA) et diverses quinones fongiques (34). H.K FRANK affirme que les concentrations d'OTA retrouvées dans les produits alimentaires des régions hyperendémiques sont 5 fois inférieures aux concentrations toxiques chez l'animal (26).

Plusieurs chercheurs considèrent la néphrotoxicité de *P. aurantiogriseum* comme un facteur pouvant être impliqué dans le développement de la NEB. Ce champignon ne produit ni OTA ni citrinine mais provoque, chez le rat, les mêmes bouleversements rénaux que ceux observés chez les patients atteints de NEB.

De plus, l'étude, en Bulgarie, en zone endémique, d'échantillons alimentaires a révélé la prépondérance de *P. aurantiogriseum* parmi toutes les espèces de *Penicillium*.

Toutes les souches isolées étaient néphrotoxiques chez le rat (74).

En conclusion, le rôle de l'OTA dans la NEB n'est pas encore clairement évalué.

Il n'existe aucun traitement de cette maladie, seules l'hémodialyse et la transplantation rénale ont pu prolonger l'espérance de vie de ces malades.

#### II - 2 - 2 - Néphropathie d'étiologie inconnue (1, 44)

D'une façon générale, les néphropathies interstitielles chroniques (NIC) sont bien identifiées au niveau clinique et histologique, mais elles n'ont pas livré tous leurs secrets quant à leur étiologie. En effet, 50 % des NIC demeurent inexplicables (dont la NEB) bien que l'OTA semble impliquée pour une partie des formes inexplicables (1).

Ainsi, en Algérie, compte-tenu de la fréquence de l'ochratoxicose humaine observée dans la population générale, et plus particulièrement des taux élevés d'OTA chez pratiquement tous les néphropathes, a été émise l'hypothèse de l'existence de néphropathies liées à l'ochratoxicose. Ceci concernerait bien entendu les néphropathies d'étiologie inconnue, parmi lesquelles, on a constaté plusieurs cas de néphropathie familiale non étiquetées, ayant probablement la même étiologie.

Tous ces néphropathes d'étiologie inconnue présentent de l'OTA dans le sang, des signes cliniques et des paramètres biologiques comparables à ceux observés chez les sujets atteints de NEB.

Des études histopathologiques sont maintenant nécessaires pour confirmer la similitude de cette maladie avec la NEB.

### **III - ETUDE DE LA TOXICITE DES OCHRATOXINES**

A la suite de la découverte des néphropathies spontanées humaines et animales, des études expérimentales ont été menées afin de démontrer la responsabilité de l'OTA dans l'apparition de cette maladie. Ultérieurement, ont été révélés les effets extrarénaux de cette mycotoxine.

#### **III - 1 - TOXICITE AIGUE**

L'OTA est extrêmement toxique, responsable de nombreuses atteintes organiques entraînant une mortalité animale importante à doses relativement faibles comme en témoigne la dose létale 50 (DL 50) (voir tableau 8).

L'OTA et ses esters méthylique et éthylique (OTC) sont à peu près équitoxiques. A l'inverse, l'OTB et ses esters sont pourvus d'une toxicité beaucoup plus faible (voir tableau 8). L'OT $\alpha$ , quant à elle, est dénuée d'effets nocifs (8).

Pour C. MALAVEILLE, la toxicité des molécules d'OTA et ses esters est liée à la présence d'un atome de chlore en position 5. L'OTB et ses esters, molécules déchlorées, sont moins toxiques (50). D'autre part, R.R. MARQUARDT rapporte que le groupement hydroxy-phénolique de l'isocoumarine est en relation directe avec la toxicité de l'OTA. Ce groupement doit exister sous sa forme ionisée pour que s'exprime la toxicité. En effet, plus le pK de ce groupement est élevé, moins l'ochratoxine est toxique (52), ainsi :

$$*pK (OTA) = 7,05 \text{ à } 7,10$$

$$*pK (OTC) = 7,05 \text{ à } 7,10$$

$$*pK (OTB) = 8$$

$$*pK (OT\alpha) = 11$$

L'OTA est donc l'OT la plus toxique, avec l'OTC.

Par ailleurs, d'après le tableau 8, on peut noter des différences de sensibilité à l'OT selon :

- Les espèces animales :

- . Le porc et le chien sont les plus sensibles.
- . Le rat, la souris, les ruminants sont les moins sensibles.

- L'âge :

Les jeunes animaux sont plus sensibles que les adultes.

- Le sexe :

Les femelles sont plus sensibles que les mâles.

- La voie d'administration :

Les OT sont plus toxiques par voie intrapéritonéale.

	DL50 : OTA (mg/kg)	DL 50 : OTB (mg/kg)
Rat femelle	14.3 (i.p) 21.4 (p.o)	
Rat mâle	12.6 (i.p) 30.3 (p.o)	
Rat nouveau-né	3.9 (p.o)	
Souris	23 (p.o)	
Porc	6 (p.o)	
Chien	2 (p.o)	
Ruminants	pas de DL50	
Truite arc-en-ciel	4.7 (i.p)	OTB n'entraîne pas de mort à 6.6 mg/kg
Poussin de 1 jour	3.6 (p.o)	54 (p.o)

**Tableau 8** - DL 50 de l'OTA et de l'OTB chez différentes espèces animales.  
(8, 28, 52).

Les symptômes cliniques associés à l'ochratoxicose aiguë comprennent : anorexie avec perte de poids, vomissements et nausées, suivis de ténesme, élévation de la température corporelle, conjonctivite purulente bilatérale, angine, polyurie, polydipsie, entérites mucohémorragiques suivant l'administration d'OTA (52).

La mort de l'animal serait due à d'importantes hémorragies multifocales, à une coagulation intravasculaire associées à la nécrose du foie, des reins et des organes lymphoïdes (58).

### III - 2 - TOXICITE CHRONIQUE

#### III - 2 - 1 - Néphrotoxicité :

La néphropathie est l'effet toxique majeur.

Elle a été étudiée chez de nombreuses espèces animales : les rongeurs, le chien, mais également chez le porc et la volaille; l'ochratoxine chez ces deux espèces est responsable de pertes économiques importantes.

La littérature rapporte une étude menée sur des porcs nourris d'aliments contaminés par l'OTA à des concentrations variant de 200 à 4000 µg/kg pendant 4 mois. Des lésions rénales identiques aux lésions spontanées ont ainsi été reproduites (43, 52).

Au bout de 4 mois, quelque soit le degré d'exposition à l'OTA, les porcs ont présenté une néphropathie.

L'étude histologique des reins a montré :

- Une atrophie des tubes proximaux avec caryomégalie (58) et épaissement des membranes de la base tubulaire.
- Une fibrose corticale
- à 4000 µg/kg, une sclérose des glomérules.

Les troubles fonctionnels associés comprennent :

- Une détérioration de la fonction tubulaire : comme l'indique la baisse du TmPAH (transport maximal de l'acide para-aminohippurique) et du rapport TmPAH/clairance inuline, l'augmentation de la glycosurie, la perte de capacité à produire des urines concentrées.

- Une altération de la fonction glomérulaire : se traduisant par une macroprotéinurie.

On observe également :

- Une hausse de la créatininémie et de l'urémie à 4000 µg/kg au bout de 4 à 6 semaines.

Dans la néphropathie aviaire (23, 28, 43, 56), les modifications de la structure rénale observées ont pu être reproduites par divers chercheurs. Il s'agit d'une dégénérescence tubulaire, de lésions de dystrophie des glomérules avec détérioration des fonctions tubulaires et glomérulaires.

Des dépôts d'acide urique ont été mis en évidence dans les uretères.

Des hémorragies rénales ont été observées.

L'examen histopathologique révèle un épaissement de la membrane basale du glomérule avec dépôts d'IgG et une infiltration lymphocytaire de l'intersticium.

Chez le rat atteint de néphropathie, les reins sont pâles et volumineux. Les modifications microscopiques varient de la dilatation des canaux collecteurs à la nécrose tubulaire avec fibrose interstitielle au niveau cortical, en passant par la dégénérescence et la desquamation des cellules tubulaires. On note également une augmentation du volume des noyaux des cellules du tube contourné proximal, une réduction de la bordure en brosse (19, 39, 48, 59).

En effet, on observe chez le rat, traité même par de faibles doses d'OTA (60 µg/kg/j, correspondant à une contamination alimentaire que l'on peut rencontrer de façon naturelle) une importante enzymurie. Les taux urinaires de gamma-glutamyl transférase, de phosphatase alcaline et d'alanine aminopeptidase sont augmentés dès la première semaine de traitement. Ces enzymes étant localisées exclusivement au niveau de la membrane de la bordure en brosse des tubes proximaux, ces résultats indiquent que l'atteinte primaire de l'OTA porte sur celle-ci (19, 59).

Ainsi, la néphrotoxicité siège principalement au niveau du tube proximal. Les glomérules ne sont altérés que pour des doses élevées d'OTA. La détérioration rénale est d'autant plus importante que la dose est élevée.

### III - 2 - 2 - Atteinte des organes lymphoïdes et hématopoïétiques

#### \* Immunotoxicité.

L'OTA présente, dans certaines conditions, un effet immunosuppresseur puissant. Cet effet est observé à faible ou à forte dose (19).

Des nécroses des tissus lymphoïdes ont été rapportées, indiquant la grande sensibilité de ces tissus à l'OTA (19).

Les premières études menées utilisaient de fortes doses d'OTA. Elles ont montré une chute du nombre de cellules indifférenciées (cellules souches pluripotentes) dans les organes lymphoïdes (thymus, rate, bourse de Fabricius) (39).

Une atteinte de l'immunité humorale et cellulaire a été mise en évidence (39).

R.B. HARVEY affirme que chez le porc, la dinde et le poulet, l'OTA supprime l'immunité à médiation cellulaire. Il a observé chez des porcs nourris pendant 35 jours d'une alimentation contaminée à hauteur de 2,5 mg OTA/kg (36):

- Une réduction de l'hypersensibilité retardée à la tuberculine.
- Une baisse de la production d'IL<sub>2</sub>.
- Une baisse du nombre et de l'activité de phagocytose des macrophages.

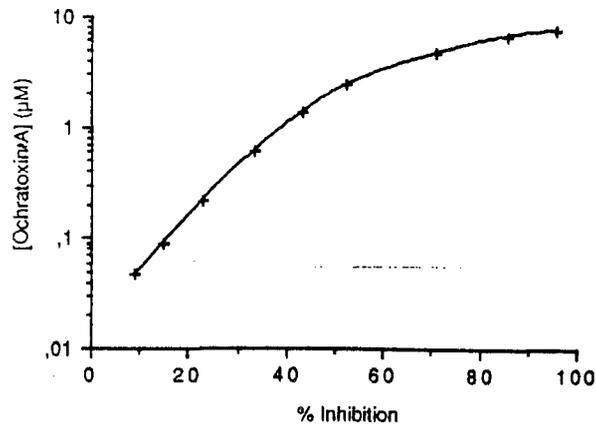
Chez la souris apparait une diminution de l'activité des cellules Natural Killer due à une baisse de production d'IL<sub>2</sub> (36, 39).

Les effets sur l'immunité humorale varient en fonction de la voie d'administration de l'OTA et de l'animal (36).

T. HOLMBERG rapporte que chez la souris, l'administration en intrapéritonéale (i.p.) provoque une baisse des concentrations en Ig; *per os*, l'OTA n'a aucun effet. Par contre, cette dernière voie est active chez le poulet, on observe alors une baisse des taux d'IgG, M, A dans le sang et les organes lymphoïdes (36, 39).

Toujours chez la souris, une unique injection i.p. d'une dose d'OTA aussi faible que 1 µg/kg engendre une importante suppression de la réponse immunitaire aux globules

rouges de mouton, évaluée par la production d'anticorps par les lymphocytes de la rate. (voir figure 4) (24).



**Figure 4** -Effets immunosuppresseurs de l'OTA chez la souris Balb/c (24).

\* Hématotoxicité (28, 43)

Les effets de l'OTA sur les paramètres sanguins sont précoces et durables, ils comprennent : une anémie avec chute du nombre de plaquettes, de globules rouges, de l'hématocrite, du taux de fer et du pourcentage de saturation de la transferrine.

Le mécanisme d'action exact de l'OTA sur le système immunitaire et hématologique n'est pas clairement défini.

Certains auteurs ont évoqué, une toxicité directe de la toxine sur la moëlle osseuse (28), mais il est possible que l'OTA, par sa capacité à inhiber la synthèse protéique (voir chapitre IV -1) soit néfaste aux cellules à division rapide telles que sont les cellules de l'hématopoïèse et de l'immunité (36).

L'effet de l'OTA sur la synthèse protéique a été évalué sur le foie, le rein, la rate de souris, *in vivo*, par mesure de l'incorporation d'acides aminés marqués au  $^{14}\text{C}$ . A la plus faible dose testée, la synthèse protéique est réduite de 26 % dans le foie, 68 % dans le rein et 75 % dans la rate, organe important du système immunitaire (24).

Le phénomène a été également reproduit chez des lymphocytes spléniques de souris pour lesquels 2  $\mu$ M d'OTA ont suffi à inhiber 50 % de la synthèse protéique. G. DIRHEIMER estime que la haute sensibilité des lymphocytes peut être due à une forte concentration de la toxine dans ces cellules (24).

En conclusion, la déplétion de la moëlle osseuse ne met pas les animaux en danger immédiat mais entraîne un état d'immunodépression très prononcé et des risques d'anémie, avec toutes les conséquences économiques possibles si l'on considère les élevages.

### III - 2 - 3 - Tératogénicité :

L'OTA est responsable d'effets tératogènes chez le rat, la souris, le hamster, la volaille mais pas chez le porc (selon KUIPER-GOODMAN) (48).

La tératogénicité est fonction de la dose, de la durée d'administration de la toxine mais également de la période gestationnelle où elle est administrée : donnée à la souris, par gavage, elle n'est tératogène qu'au 8<sup>ème</sup> et 9<sup>ème</sup> jour de gestation (28, 48).

L'OTA favorise la mort *in utéro*, provoque une diminution du poids foetal avec de sévères malformations (43).

Le système nerveux central est l'organe cible (nécroses cérébrales, hydrocéphalies, microcéphalies, retards moteurs.) (58).

Y. FUKUI a mené une étude comparative chez une souris traitée par l'OTA en prénatal, présentant une microcéphalie, et chez une souris de contrôle, concernant le nombre de neurones et de synapses dans le cortex somatosensitif. Il a observé chez la souris malformée une baisse du rapport entre le nombre de synapses et celui de neurones, résultant d'une croissance dendritique réduite (29).

Mais peuvent également être atteints les viscères (yeux, tube digestif, coeur) et le squelette (malformations cranio-faciales, des membres) (39, 43, 58) (voir figure 5).



**Figure 5** - Embryons de poule traitée par l'OTA (1) et non traitée (2) (9).

### III - 2 - 4 - Cancérogénèse, mutagénicité, génotoxicité

♦ L'OTA exerce une activité génotoxique sur les cellules de mammifères (63).

Elle provoque, en effet, des cassures monobrans de l'ADN dans des cellules hépatiques, rénales et spléniques de souris, *in vitro* et *in vivo* (24).

Une recherche récente a même pu mettre en évidence des adduits d'ADN formés dans le foie, la rate mais principalement dans le rein de souris, ce qui est tout à fait corrélé à la carcinogénicité rénale de l'OTA (voir ci-dessous) (63).

Il reste à définir les bases qui ont été modifiées. Concernant la nature des composés dérivés de la toxine responsables de la génotoxicité, A.PFOLH LESZKOWICZ a montré que ceux-ci sont issus de la voie oxydative de métabolisation de l'OTA (62). Il avance l'hypothèse qu'au moins 3 métabolites sont mis en jeu puisque les adduits retrouvés sont différents dans les 3 organes considérés (63). A.HENNING affirme qu'il ne peut s'agir des métabolites hydroxylés de l'OTA (4-(R), 4-(S) et 10-hydroxyochratoxine A) (37).

Quant à C. MALAVEILLE, une étude de la génotoxicité de l'OTA et de dérivés voisins structurellement sur bactérie (*E.Coli*) l'amène à penser que la présence d'un groupement chlore en position 5 est déterminante pour la génotoxicité (50).

♦ Pendant longtemps, on a pensé que l'OTA n'était pas mutagène. Des recherches récentes ont réfuté cette affirmation (24, 37).

A. HENNING a mis en évidence l'activité mutagène de l'OTA, métabolisée par des hépatocytes, sur une souche bactérienne ainsi que sur des lymphocytes humains (*in vitro*). Il a observé une augmentation de l'incidence d'échanges de matériel génétique entre chromatides soeurs (37).

♦ De nombreuses équipes ont pu obtenir des cancers expérimentaux chez des animaux nourris, pendant plusieurs semaines ou mois, avec des doses d'OTA variables.

Il s'agit de tumeurs hépatiques mais surtout rénales. Un récapitulatif des expériences récentes menées sur des rongeurs nous montre que (41) :

- Les taux d'exposition à l'OTA associés aux tumeurs hépatiques sont considérablement inférieurs à ceux associés aux cancers rénaux. (0,8mg OTA/kg de nourriture pendant 2 ans chez la souris B6C3F1 contre 25 mg/kg pendant 70 jours chez la souris DDD).

En considérant la consommation totale d'OTA, la différence persiste.

Mais ceci est infirmé par une expérience menée par KANISAWA lors de laquelle des souris mâles ddY ont développé des tumeurs hépatiques après 20 semaines contre 15 semaines pour les tumeurs rénales, à un même degré d'exposition (50 mg OTA/kg) (41, 43).

- Chez les rats Fisher exposés pendant 9 mois, 15 mois et 2 ans à des taux d'OTA de 21, 70 ou 210 µg/kg de poids corporel/jour, seulement 1 rat sur 50 a développé une tumeur hépatique à 210 µg/kg au bout de 2 ans.

70 µg/kg est la concentration la plus faible causant des tumeurs rénales chez le mâle contre 210 µg/kg chez la femelle.

Ont été détectés : 1 adénome rénal au 9ème mois chez un mâle à 210 µg/kg ; 2 tumeurs (une maligne, une bénigne) au 15ème mois chez 2 mâles à 70 µg/kg ; 1 adénome et 2 carcinomes chez des mâles à 210 µg/kg. Aucune hyperplasie n'a été mise en évidence à moins de 70 µg/kg.

Il faut noter la survenue, dès le 9ème mois, à 70 et 210 µg/kg de lésions rénales préneoplasiques chez tous les rats, quelque soit le sexe.

D'autre part, au bout de 2 ans, ont été mises en évidence, chez les femelles, quelques tumeurs mammaires, et de nombreuses métastases chez les mâles (du poumon, des ganglions lymphatiques) (41, 43, 52).

- Les souris semblent développer des tumeurs du foie à des doses inférieures, et plus rapidement que les rats, alors que les rats répondent mieux à de faibles doses pour les tumeurs du rein (41, 43).

En effet, en comparant l'étude chez les rats Fisher précédemment citée et une étude menée chez des souris ddY gavées de 4,5 mg d'OTA/kg de poids corporel/jour pendant 44 semaines (ayant présenté des tumeurs en fin expérience), on constate que les rats ont développé des cancers rénaux à des doses 20 à 60 fois inférieures à celles des souris.

- Les mâles sont plus enclins que les femelles à développer ces deux types de cancers.

Ainsi, l'OTA seule peut entraîner, chez les rongeurs, la formation de cancers du rein, du foie et des glandes mammaires.

L'atteinte rénale prédomine, elle se fait au niveau de l'épithélium du tube contourné proximal dans sa localisation corticale. La distribution tissulaire de l'OTA mesurée après une unique injection I.V n'explique pas la sensibilité du rein puisque d'autres organes comme le foie, le coeur, la moëlle osseuse reçoivent autant, voire plus d'OTA. D'autre part, de plus grandes quantités de toxine sont retrouvées dans la zone médullaire du rein et non dans la zone corticale (13).

Les réponses semblent plus marquées chez les mâles. Il serait nécessaire de confirmer cette observation par des expériences à plus long terme afin que les lésions néoplasiques puissent s'exprimer chez les femelles, étant donné que les tumeurs du rein apparaissent tardivement (41).

L'activité immunosuppressive de l'OTA peut, par la réduction de l'activité des cellules NK, jouer un rôle dans le développement de ces cancers (36, 48).

**L'OTA engendre, mieux que tous les autres agents chimiques testés pour leur cancérogénicité chez les rongeurs, des réponses rénales marquées, même à de faibles degrés d'exposition.**

### III - 2 - 5 - Hépatotoxicité :

Les atteintes hépatiques retrouvées chez les différents animaux testés comprennent (7, 23, 28, 39, 43):

- des foyers de nécrose
- pycnose et Caryorexie des noyaux hépatocytaires.
- une vacuolisation intranucléaire et intracytoplasmique chez la truite.
- une atteinte des mitochondries.
- une accumulation de glycogène dans le cytoplasme
- des hémorragies du parenchyme

D'autre part, G. LARRIEU a mené une étude concernant l'effet de l'OTA sur les enzymes hépatiques de la métabolisation, *in vitro*, chez le rat. Une baisse des enzymes responsables d'oxydation (phase I de la métabolisation) a été observée : cytochrome P450, aniline hydroxylase, aminopyrine N-déméthylase ; alors que les enzymes de la phase II n'ont pas été affectées, probablement du fait de la localisation périportale des nécroses induites par la toxine (49).

### III - 2 - 6 - Perturbation de l'hémostase (19, 43)

Elle touche les plaquettes et certains facteurs de la coagulation.  
Des hémorragies rénales, hépatiques, intestinales ont été décelées.

Cet effet peut être relié à la structure isocoumarinique de la toxine, bien que certains auteurs ayant observé des hémorragies après 12 heures d'intoxication doutent d'un effet sur la synthèse de prothrombine du foie, effet qui n'est habituellement visible qu'au bout de 48 heures. Mais les effets tardifs observés 4 -10 jours après une intoxication chez le rat ou après 3 semaines chez le poulet pourraient être dus à cet effet de type "coumarine" (19).

Une inhibition de la synthèse protéique (voir chapitre IV-1) au niveau hépatique, touchant alors les facteurs plasmatiques de l'hémostase, pourrait également expliquer les défauts de coagulation observés (19).

### III - 2 - 7 - Perturbation de la croissance staturopondérale

Au cours d'intoxications chez différentes espèces animales, un retard de la croissance staturopondérale a pu être mis en évidence.

Des concentrations alimentaires d'OTA supérieures à 1,4 mg/kg sont nécessaires à l'observation des effets chez le porc, à savoir: moindre consommation alimentaire, croissance pondérale ralentie (52). Ainsi, un porc de 20 kg nourri d'une alimentation contaminée à 2,5 mg/kg pendant 35 jours présente un gain de poids de 15,5 kg en moyenne contre 25,5 kg chez un animal témoin, pour une consommation moyenne de 41 kg et 63 kg de nourriture respectivement (36).

Cependant, les performances de l'animal peuvent se normaliser après réintroduction d'une alimentation saine.

Chez la volaille, la toxicité de l'OTA s'exprime à de faibles concentrations, dès 0,85 mg/kg, avec les mêmes symptômes (56).

### III - 2 - 8 - Autres atteintes

la production de lait, chez la vache laitière, cesse brusquement après administration d'une dose unique de 13,3 mg/kg de poids corporel (43).

L'OTA provoque, chez la poule, un retard de maturation sexuelle, une diminution de la production d'oeufs et affecte la couvaison (28, 39, 52).

L'OTA atteint également l'appareil digestif : des hémorragies digestives ont été rapportées chez le chien, le porc, la volaille (52).

Enfin, connaissant la neurotoxicité foetale de l'OTA, il reste à évaluer sa neurotoxicité postnatale (48). Il a été rapporté que l'OTA est à l'origine d'une baisse du taux de dopamine, d'une hausse de celui d'épinéphrine, norépinéphrine et 5 hydroxytryptamine dans le cerveau de souris (7).

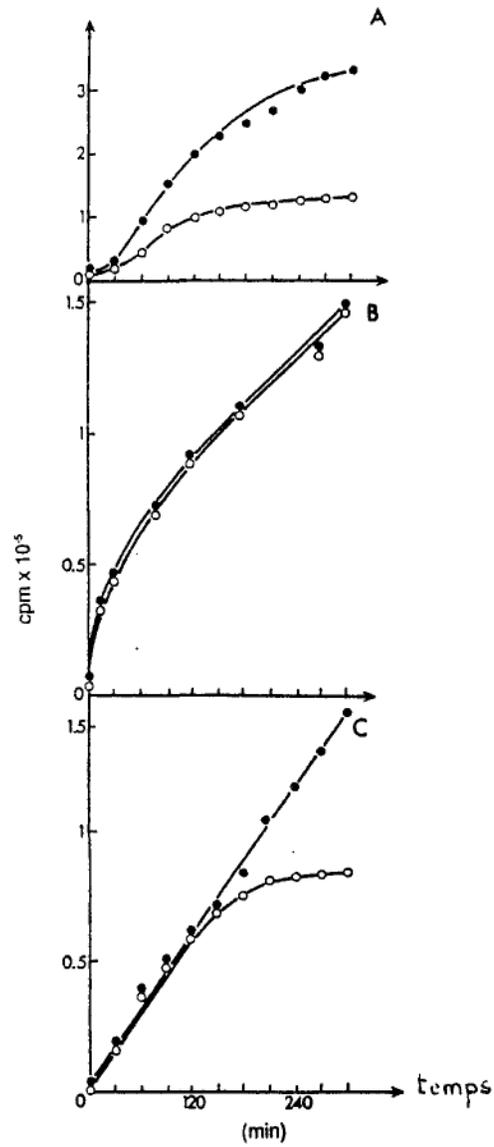
## **IV - MODE D'ACTION CELLULAIRE DE L'OTA**

### **IV - 1 - EFFETS SUR LA SYNTHÈSE PROTÉIQUE**

Il est aujourd'hui admis que, aussi bien chez les Procaryotes que chez les Eucaryotes, l'OTA agit principalement en inhibant la synthèse protéique (24).

Cette substance testée sur des bactéries, en particulier *Bacillus subtilis*, provoque une forte inhibition de la croissance et de la synthèse protéique, suivies par celle de la synthèse d'ARN. La synthèse d'ADN n'est pas atteinte (24).

Des résultats similaires ont été obtenus avec des cultures cellulaires d'hépatome de rat. (voir figure 6) (24)



**Figure 6** - Inhibition de la synthèse des protéines (A), d'ADN (B) et d'ARN (C) par l'OTA dans une culture cellulaire d'hépatome. (cercles pleins : contrôle ; cercles vides : OTA) (24).

Il a été suggéré que l'inhibition de la synthèse d'ARN est l'aboutissement d'un phénomène de régulation et non d'une toxicité directe de l'OTA puisque lorsque la synthèse protéique est préalablement bloquée par le chloramphénicol, l'OTA n'a pas d'effet (24).

En fait, l'OTA agit sur la production d'ARN par l'intermédiaire des nucléotides régulateurs ppGpp et pppGpp, ceux-ci s'accumulant dans la bactérie en présence de la toxine.

L'accumulation de ces nucléotides est généralement interprétée comme le signe d'une aminoacylation incomplète des ARN de transfert (ARNt), en particulier est affecté l'ARNt de la phénylalanine (24, 68).

Des études menées sur des préparations partiellement purifiées de phénylalanine ARNt synthétase (PheRs) de *B. subtilis* ont montré que cette enzyme est inhibée par l'OTA de façon compétitive et spécifique, indiquant que l'OTA agit en tant qu'analogue de la phénylalanine. Les deux réactions catalysées par cette enzyme sont affectées, à savoir l'activation de l'acide aminé ( la phénylalanine) et son chargement sur L'ARNt (24).

Ceci se retrouve *in vitro*, chez les Eucaryotes (24).

Ce mécanisme d'action a été confirmé de plusieurs façons :

- chez les Procaryotes, lorsque du phénylalanine-ARNt chargé par la phénylalanine est introduit dans le milieu de synthèse protéique en présence d'OTA, l'inhibition n'a pas lieu (19).

- chez les Eucaryotes, une addition de phénylalanine, en quantité suffisante, peut empêcher et même réverser l'inhibition de la synthèse des protéines dans des cellules en culture (19).

Ceci ne peut s'expliquer par un phénomène de compétition au niveau des récepteurs membranaires. En effet, la phénylalanine, donnée 2 heures après l'OTA reste efficace (alors que la toxine est déjà dans la cellule et a inhibé la croissance et la synthèse protéique). De plus, il a été montré que la présence de phénylalanine ne contrecarre pas l'entrée de l'OTA dans la cellule, et vice-versa (24).

- Des ochratoxines synthétiques, obtenues par remplacement de la phénylalanine par d'autres acides aminés, ont été étudiées *in vitro* et dans des cellules en cultures. Elles ont montré une spécificité à inhiber l'aminocacylation des ARNt leur correspondant : par exemple, la sérine-OTA inhibe spécifiquement la séryl -ARNt synthétase (19).

Mais les résultats d'une étude très récente vont à l'encontre de l'hypothèse d'une action directe de l'OTA sur la PheRS.

A. ROTH a travaillé sur une préparation purifiée de PheRS de *B. subtilis* (d'où peut-être la divergence des résultats).

Les  $K_m$  et  $K_i$  pour la PheRS respectivement de la phénylalanine et de l'OTA ont été déterminés ainsi que leurs concentrations intracellulaires. Il est apparu que la concentration de l'OTA dans la cellule, malgré une forte accumulation par transport actif, reste trop faible pour entrer en compétition avec la phénylalanine(68).

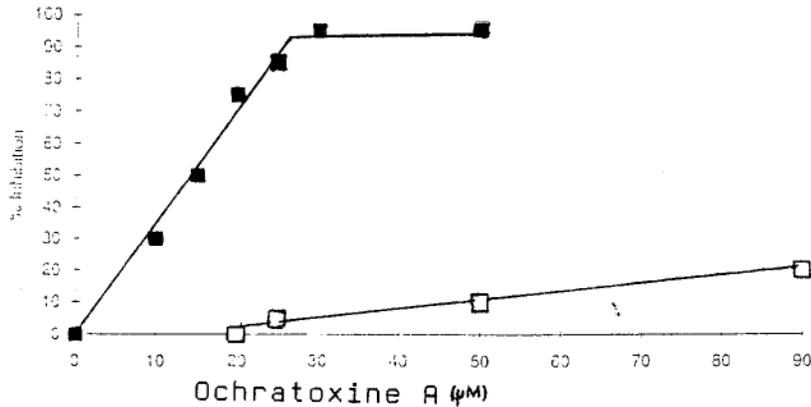
Enfin, il a été montré que le pool des ARN messagers (ARNm) est globalement réduit de 40 % par l'OTA dans des cellules rénales de rat, mais que ce phénomène se limite à certains ARNm (53).

H. MEISNER indique que la transcription des gènes codant pour ces ARNm sensibles à l'OTA n'est pas affectée. La toxine semble donc agir sur un mécanisme post-transcriptionnel, lors de la modification des ARNm (épissage, coiffage, ou addition d'une séquence polyA), lors de la traduction de ces ARNm, ou enfin, la toxine pourrait favoriser leur dégradation (52, 53).

Bien qu'aucune de ces hypothèses ne puissent être complètement exclue, il a été montré que la traduction d'un ARNm bien particulier (celui d'une enzyme de la néoglucogénèse) n'est pas perturbée. Il semble donc plus probable que l'OTA affecte le turnover des ARNm.

Les facteurs déterminant la susceptibilité d'un type d'ARNm à l'OTA ne sont pas connus (53).

Une étude comparative des effets de l'OTA sur des cellules rénales de chien et des cellules d'hépatome de rat montre clairement une plus grande sensibilité des cellules rénales (voir figure 7) (24).



**Figure 7** - Effets de l'OTA sur la synthèse protéique sur une culture cellulaire d'hépatome (carrés vides) et sur des cellules rénales de chien (carrés pleins) (24).

De plus, les tubules proximaux et les glomérules sont connus pour avoir un taux d'incorporation des acides aminés aromatiques (dont la phénylalanine) très élevé dans les protéines. Celui-ci est réduit de 50% par l'OTA (24).

Ces remarques sont bien corrélées avec la toxicité générale de l'OTA : la néphrotoxicité est plus affirmée que l'hépatotoxicité et siège principalement au niveau des tubes proximaux et des glomérules.

Signalons enfin que l'OTB et l'OT $\alpha$  n'ont aucune action néfaste sur la synthèse protéique alors que la 4-hydroxyochratoxine A est aussi efficace que l'OTA.

#### **IV - 2 - EFFETS SUR LE METABOLISME DE LA TYROSINE**

On a pensé que l'OTA pourrait ainsi agir sur d'autres enzymes ayant pour substrat la phénylalanine (24).

Il a été montré récemment qu'elle inhibe la phénylalanine hydroxylase. Lorsque des hépatocytes de rat sont incubés avec de l'OTA survient une inhibition de l'hydroxylation de la phénylalanine en tyrosine (réaction catalysée par la phénylalanine hydroxylase) et subséquemment du métabolisme de la tyrosine (voir figure 8) (24, 52).

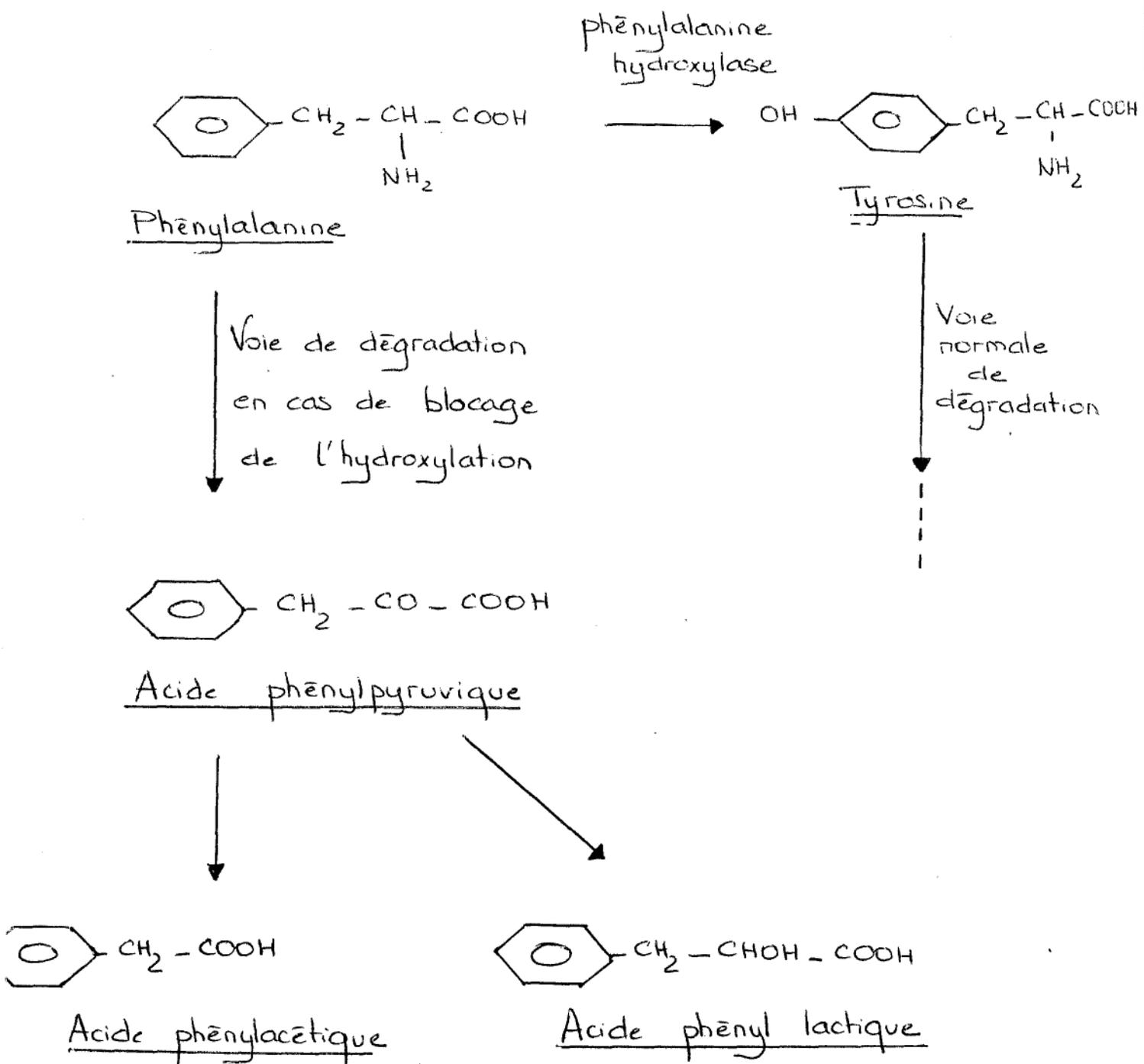


Figure 8 - Métabolisme de la tyrosine

L'OT $\alpha$  n'a pas d'effet sous ces conditions expérimentales. L'incubation d'hépatocytes avec de l'OTA marquée au  $^3\text{H}$  et de la phénylalanine résulte en la formation de Tyr-OTA (24).

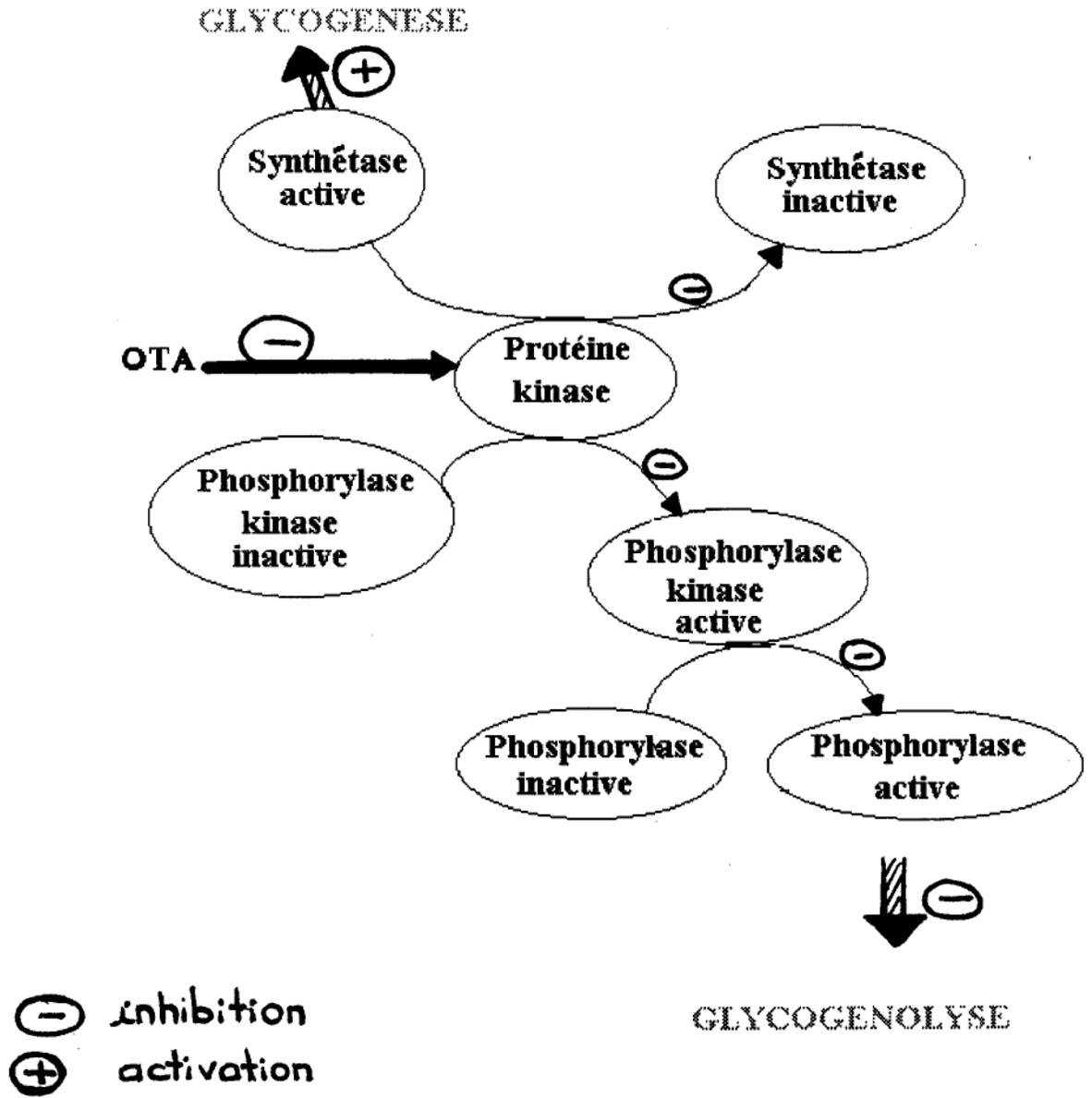
Ainsi, la portion isocoumarinique de l'OTA n'est pas nécessaire à l'inhibition de l'enzyme et l'OTA, par analogie avec la phénylalanine agit en tant que substrat pour cette enzyme.

La Tyr-OTA a également été découverte, *in vivo*, dans le foie d'animaux intoxiqués (24).

Le blocage de la phénylalanine hydroxylase pourrait conduire à un effet "phénylcétonurie-like" avec augmentation de la production de phénylpyruvate et de phénylacétate. (voir figure 8) (52).

#### **IV - 3 - EFFETS SUR LE METABOLISME GLUCIDIQUE**

Il est rapporté que l'OTA a un effet sur le métabolisme du glucose et de l'insuline, favorise l'accumulation de glycogène dans le foie en supprimant la glycogénolyse via la protéine kinase AMPc dépendante (52). En inhibant l'AMPc, l'OTA inhibe la cascade d'activations successives de la phosphorylase et par voie de conséquence la glycogénolyse. (voir figure 9).



**Figure 9-** Schéma du mécanisme d'inhibition de l'activation de la phosphorylase par L'OTA.

L'OTA inhibe également l'enzyme clé de la néoglucogénèse dans le rein : la phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK) (19, 43, 52, 53). La néoglucogénèse rénale à partir du pyruvate est réduite de 26% par l'OTA administrée à une dose de 2 mg/kg/j, pendant 2 jours, chez le rat, et la PEPCK est diminuée de 55%. Des doses plus faibles (0,3-0,5 mg/kg/j) abaissent l'enzyme cytosolique de 50 % (19). De telles observations ont pu également être faites chez des rats à 0,1 mg/kg/j et chez des souris à 0,008 mg/kg/j (53). La même enzyme est diminuée chez le porc nourri pendant 1 à 4 semaines avec de l'OTA (1ppm dans la nourriture : ce que l'on peut tout à fait rencontrer dans des conditions naturelles) (19).

H. MEISNER n'a pas retrouvé d'atteinte de la PEPCK hépatique (53).

Il rapporte une baisse de l'ARNm correspondant à la PEPCK rénale. Celle-ci ne serait pas consécutive à un effet sur la biosynthèse de l'ARNm lors de la transcription mais à une dégradation excessive.

Cependant, ce phénomène pourrait découler de l'inhibition de la synthèse protéique qu'induit l'OTA (voir chapitre IV-1) : les ARNm de haut turn-over ne sont plus protégés par les ribosomes lorsque la synthèse protéique est stoppée (24).

#### **IV - 4 - ATTEINTE DE LA FONCTION MITOCHONDRIALE**

**(7, 21, 24, 43, 52,67)**

La dégénérescence des mitochondries, en particulier leur dilatation, est mise en évidence après administration d'OTA à hautes doses (7, 43). La respiration mitochondriale hépatique, chez le rat, est puissamment inhibée par l'OTA mais encore plus par son produit d'hydrolyse, l'OT $\alpha$  (52).

L'OTA agit en limitant le transport transmembranaire de diverses molécules en tant qu'inhibiteur compétitif des protéines de transport localisées dans la membrane interne mitochondriale.

Des études ont révélé que le transport transmembranaire de l'OTA est un processus énergie dépendant, consommant de l'ATP (source énergétique), conduisant rapidement à

un épuisement du pool d'ATP intramitochondrial.

De plus, l'OTA inhibe le transport du phosphore inorganique impliqué dans la phosphorylation de l'ADP en ATP.

L'inhibition de la respiration mitochondriale devrait donc être un mécanisme essentiel dans les manifestations de la toxicité, aiguë de l'OTA (en particulier au niveau du rein, riche en mitochondries), si l'OT $\alpha$ , ochratoxine atoxique, n'était également un inhibiteur puissant de la chaîne respiratoire.

#### **IV - 5 - DOMMAGES OXYDATIFS :**

RAHIMTULA, en 1988, a découvert que l'addition d'OTA à des microsomes rénaux et hépatiques de rat augmente fortement la peroxydation lipidique (67). Ceci a été reproduit sur des isolats de tubes proximaux de rat, et *in vivo* chez le rat : la peroxydation lipidique est alors évaluée par la quantité d'éthane exhalé (52).

*In vitro*, l'OTA stimule la peroxydation lipidique NADPH -dépendante et la peroxydation lipidique ascorbate-dépendante par formation d'un complexe avec le fer (50, 52).

La peroxydation des acides gras polyinsaturés des membranes lipidiques a été proposée comme étant le mécanisme à l'origine d'altérations structurales des membranes biologiques, ayant pour conséquence des troubles des échanges transmembranaires de substances (24).

Ainsi, l'OTA perturbe l'homéostasie du Ca<sup>2+</sup> dans la cellule (67).

Le Ca<sup>2+</sup> libre dans la cellule se répartit en :

- Ca<sup>2+</sup> cytosolique
- Ca<sup>2+</sup> mitochondrial
- Ca<sup>2+</sup> du réticulum endoplasmique

L'homéostasie du  $\text{Ca}^{2+}$  cytosolique est assurée par :

- La pompe calcique ATP - dépendante de la membrane cellulaire, refoulant le  $\text{Ca}^{2+}$  vers le milieu extracellulaire.
- Par la mitochondrie et le réticulum endoplasmique séquestrant par un phénomène actif (couplé à la chaîne respiratoire pour la mitochondrie) l'excès de  $\text{Ca}^{2+}$  cytosolique.

Par atteinte de la membrane cellulaire, de la membrane du réticulum endoplasmique, de celle de la mitochondrie et enfin de la respiration mitochondriale (voir chapitre IV - 4), l'homéostasie du  $\text{Ca}^{2+}$  est perturbée. On assiste à une augmentation de la concentration du  $\text{Ca}^{2+}$  dans le cytosol de la cellule, altérant l'activité métabolique intracellulaire et conduisant à la nécrose cellulaire (39, 67).

D'autre part, l'OTA éliminée dans les urines est filtrée au niveau du glomérule, sécrétée et réabsorbée au niveau du tube proximal. Ces systèmes de transport dépendent de l'intégrité membranaire. I. BAUDRIMONT estime que l'atteinte des membranes par peroxydation lipidique à l'origine d'une diminution de leur fluidité pourrait entraver l'excrétion tubulaire de la toxine et expliquer son action au niveau de la cellule tubulaire (5).

R.R MARQUARDT rapporte que le complexe OTA -Fer formé produit un radical hydroxyle ( $\text{OH}^\bullet$ ) extrêmement toxique en présence de la NADPH cytochrome P450 réductase. Il a été suggéré que ce dernier serait en partie responsable de la toxicité de l'OTA (52).

I. BAUDRIMONT, quant à lui, estime que les radicaux supéroxydes ( $\text{O}_2^\bullet$ ) et le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) sont impliqués dans les lésions induites par l'OTA (5).

Signalons enfin que l'OTC, comme l'OTA, peut engendrer ce phénomène de peroxydation lipidique (38).

Il semble donc que l'importance des effets dus à la peroxydation lipidique induite par l'OTA reste à être définie, de même que son rôle dans la toxicité de cette mycotoxine.

En conclusion, il serait nécessaire d'évaluer l'implication relative des effets de l'OTA, sur la mitochondrie, sur la synthèse protéique et sur la peroxydation lipidique dans les manifestations toxiques de L'OTA (hépatotoxicité, néphrotoxicité....).

## **V - L'OCRATOXINE A : PRESENCE CHEZ L'HOMME**

Comme nous l'avons vu, l'OTA est présente dans pratiquement le monde entier. Elle est l'agent causal de la néphropathie porcine et sa présence dans l'alimentation de l'homme dans certaines régions des Balkans est associée à la néphropathie endémique humaine.

L'OTA est néphrotoxique chez les mammifères monogastriques et carcinogène chez les rongeurs. Elle est également hépatotoxique, tératogène et immunotoxique.

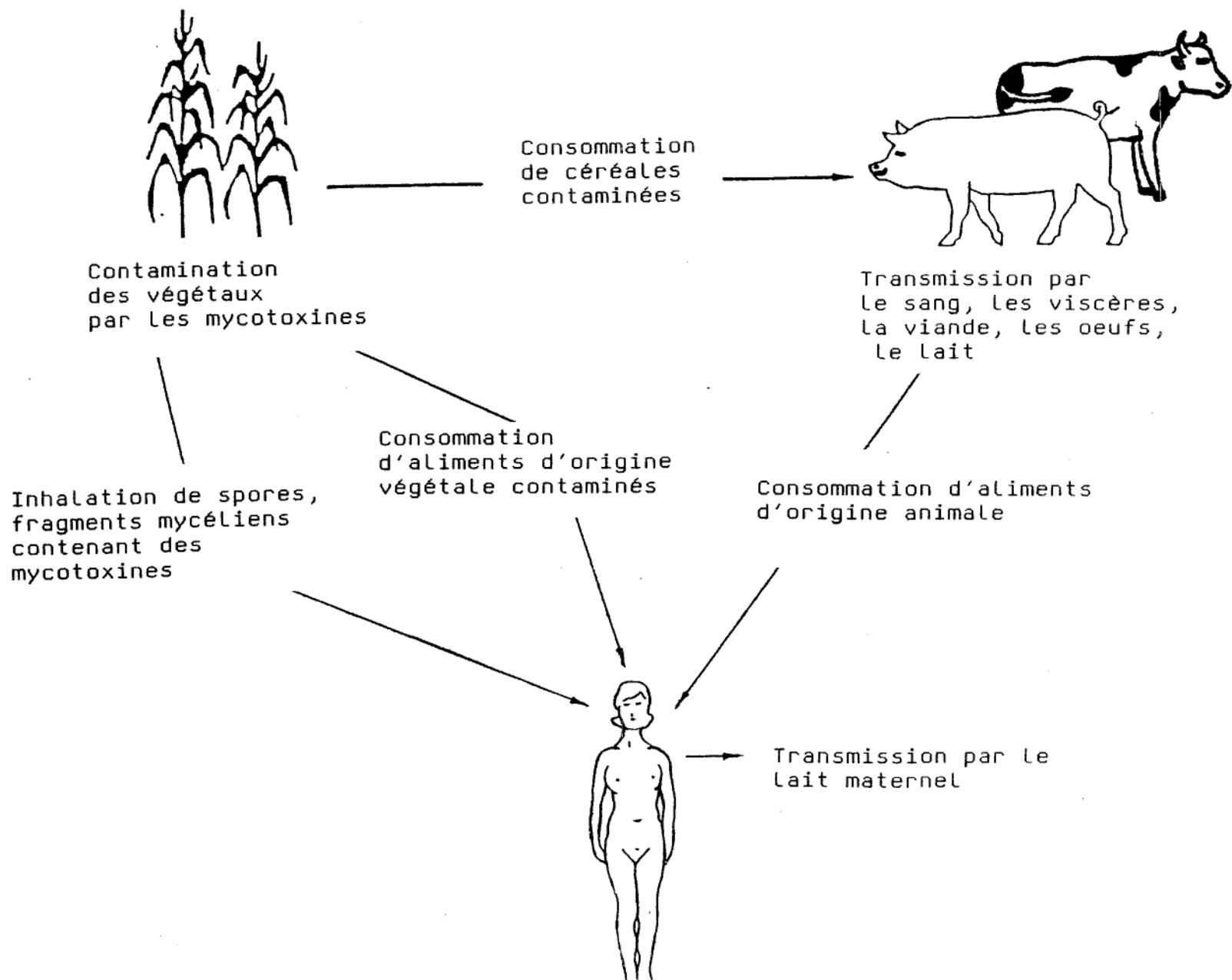
L'exposition humaine à de faibles doses peut être fréquente, comme nous le montre les études menées dans divers pays. Il est donc nécessaire d'évaluer le risque potentiel pour la santé de l'homme.

### **V- 1 - ESTIMATION DE L'EXPOSITION HUMAINE A L'OTA**

Les principales sources d'exposition de l'homme à l'OTA sont résumées dans la figure 10. Il s'agit de transmission par : (42)

- la consommation de produits d'origine végétale (céréales, haricots secs ...) contaminés.
  
- indirectement par la consommation de denrées d'origine animale contaminées, les animaux ayant eux-mêmes consommé une nourriture contenant de l'OTA.
  
- le lait maternel lorsque la mère a ingéré de l'OTA.
  
- l'inhalation de spores fongiques, fragments mycéliens contenant de l'OTA.

Figure 10 - L'OTA dans la chaîne alimentaire humaine (42).



L'exposition peut varier avec les pays ou même, d'un groupe d'individus à un autre dans un même pays.

Son estimation est basée sur :

- des dosages sanguins de l'OTA.
- la détection de la toxine dans les produits alimentaires

Elle conduit à l'estimation du PDI : "Probable Daily Intake", représentant la quantité globale d'OTA ingérée par kg de poids corporel et par jour, pour une population donnée (48).

#### V - 1 - 1 - Dosages sanguins (4, 17, 18, 23, 26, 35, 42, 45, 48)

Ils permettent, tout d'abord, de confirmer l'exposition humaine à l'OTA (48).

De nombreuses études ont été menées dans divers pays européens et au Canada, révélant que l'homme est effectivement exposé à cette mycotoxine de façon continue et dans tous les pays. Ceci n'est pas surprenant et peut être attribué à la probable longue demie-vie de l'OTA chez l'homme. (voir tableau 9).

Ces études permettent d'identifier les populations à haut risque.

La comparaison des résultats donnés par différents laboratoires pour différentes populations est difficile car les méthodes de dosage utilisées ont des limites de détection, des sensibilités différentes et il existe plusieurs méthodes de calcul des moyennes.

PAYS	% ECHANTIL- LONS POSITIFS	CONCENTRA- -TION (ng/mL)		LIMITE DE DETECTION (ng/mL)
		MOYENNE	VALEURS	
CANADA	40	--	--	--
TCHECOSLOVAQUIE	24,5	--	0,1 - 1,2	--
ALLEMAGNE	56,5	0,6	0,1 - 14,4	0,1
POLOGNE	7,2	0,27	1,0 - 40,0	--
SUEDE				
* Visby	31	0,3	0,3 - 6,0	0,3
* Uppsala	4	0,02	0,3 - 0,8	0,3
DANEMARK	54,2	1,6	0,6 - 4,4	0,1
FRANCE :				
* Population rurale	1,6	--	--	2
	22	--	0,1 - 6,0	0,1
* Population urbaine	0,2	--	--	2
	20,1	--	0,1 - 1,3	0,1
BALKANS :				
* Bulgarie				
endémie	26,0	20,0	1,0 - 35,0	2
non endémie	7,7	10,0	1,0 - ?	2
EX-YOUGOSLAVIE :				
endémie	6,0	7,2	1,0 - 40,0	2
non endémie	7,7	5,4	1,0 - 10,0	2
ALGERIE	66,9	2,8	? - 9,0	0,1
TUNISIE	82	3,5	1,0 - 100,0	0,1

\* Avec 2 cas aberrants à 42 et 100 ng/mL

**Tableau 9-**Dosage de l'OTA dans le sang en fonction de l'origine géographique des différentes populations témoins sélectionnées (4,17,35,45,48).

Cependant, il n'apparaît pas de grandes variations (si on se réfère aux concentrations minimales et maximales détectées) entre l'Allemagne, la Suède, la Pologne, le Danemark, mais les valeurs correspondant aux zones endémiques des Balkans sont significativement supérieures. Les plus hautes valeurs de ces régions peuvent être dues à une accumulation de l'OTA dans le sang, consécutive à l'atteinte rénale liée à la néphropathie des Balkans.

Dans les pays du Maghreb, la fréquence de l'ochratoxicose est plus élevée qu'en Europe.

La France reste bien positionnée avec une fréquence relativement faible et des taux acceptables à niveau de détection comparable (0,1 ng/ml) (17, 18).

La présence de résidus dans le sang humain est bien entendu corrélée à la présence d'OTA dans les produits céréaliers, de façon directe ou indirectement par l'intermédiaire des denrées d'origine animale. Celle-ci est sous l'influence de facteurs environnementaux favorables.

Les régions à risque restent celles où prévalent de longues périodes d'humidité (pluie, brouillard) surtout au moment de la récolte des céréales, soit : le Danemark, la Suède, la Grande Bretagne, les côtes allemandes et les régions situées le long du Danube (Bulgarie, Roumanie, Ex-Yougoslavie) (26).

Des fluctuations saisonnières et annuelles dans un même pays pourraient également être mises en évidence, reflétant des variations des taux d'OTA dans l'alimentation. Ainsi, la bonne position de la France peut s'expliquer par le fait que tous les échantillons ont été prélevés dans les années 91, début 92, où une sécheresse globale prévalait en France.

D'autre part, il est à noter une amélioration des conditions de séchage et de stockage des grains depuis quelques années. La population rurale, plus encline à dépendre de ses propres productions (par exemple en France et dans le comté de Visby situé sur l'île de Gotland) est plus exposée à l'OTA que la population urbaine (Voir tableau 9) (17).

Il faut se rappeler que l'homme est également exposé à l'OTA par l'intermédiaire de poussières contenant des spores ou des fragments mycéliens renfermant de l'OTA et pouvant être inhalées. La population à risque est alors représentée par les individus amenés à manipuler des produits contaminés (les travailleurs de l'industrie de fabrication de la bière, les fermiers) mais également par le personnel des laboratoires de recherches

travaillant sur les mycotoxines.(42).

Un cas d'intoxication aiguë a été rapporté chez un fermier et son épouse ayant séjourné 8 heures dans un grenier fermé pour tamiser du blé engrangé depuis plus de 2 ans (23).

Etant donné que le profil toxicocinétique de l'OTA est encore inconnu (l'OTA a probablement une demie-vie longue chez l'homme), il est difficile d'interpréter les résultats sanguins et d'en déduire le PDI. Cependant, en 1986, KLAASSEN a mis au point une formule permettant son calcul à partir des concentrations sanguines, de la clairance plasmatique et de la biodisponibilité, de l'OTA (4, 45). Cette formule est la suivante:

$$K = Cpl \times Cp/A$$

- avec : Cpl : clairance plasmatique de l'OTA .  
 Cp : concentration d'OTA dans le plasma  
 A : biodisponibilité  
 K : PDI s'exprimant en ng/kg corporel/jour

Cette méthode de calcul appliquée à l'Algérie et à la Tunisie nous donne des PDI de (4,45):

- 3,8 à 80,4 ng/kg/j en Algérie
- 4,7 à 130 ng/kg/j en Tunisie

Les valeurs extrêmes correspondent aux patients souffrant d'atteinte rénale.

Le plus fort "daily intake" mesuré en pays scandinaves correspond à 9 ng/kg/j; on voit que les valeurs les plus élevées en Tunisie sont 14 fois plus fortes! Il est clair que l'exposition à l'OTA est plus importante dans les pays d'Afrique du Nord que dans les pays d'Europe. Il reste à confirmer ce calcul théorique par la détermination pratique qui est en cours sur le terrain.

La question peut se poser alors de savoir s'il existe dans ces pays une néphropathie humaine liée à l'OTA (voir chapitre II - 2 - 2)

### V - 1 - 2 - Contamination alimentaire (25, 26, 48, 65, 71)

L'estimation de la contamination des aliments (fréquence, concentration) combinée à une étude des habitudes alimentaires d'une population permet l'estimation du PDI (48).

D'une façon générale, les études menées n'ont pas révélé de contamination excessive des aliments destinés à l'homme, si ce n'est dans quelques régions de l'Europe du Nord et des Balkans (65) (voir chapitre I-4 et I-5). Aux Etats-Unis, malgré d'intensives recherches, seuls quelques cas de contamination ont été détectés (81).

Cependant, il faut rappeler qu'il existe de grandes fluctuations de la contamination :

- \*liées aux différences de climat (variations géographiques et variations saisonnières).

- \* liées aux techniques de récolte, de séchage, de stockage : dans les pays en voie de développement, celles-ci restent médiocres.

Il est également nécessaire de tenir compte des habitudes alimentaires des populations étudiées.

D'une façon globale, les produits céréaliers étant le vecteur le plus important d'OTA, les populations grandes consommatrices de céréales et de leurs dérivés sont plus exposées à l'OTA. Ce sont, par exemple, les populations des pays en voie de développement, d'autant plus que dans ces pays les matières premières végétales endommagées par les champignons ne sont pas évincées lors de leur utilisation.

Après les céréales viennent les produits alimentaires d'origine porcine. Ils sont consommés en grande quantité dans les pays d'Europe du Nord (viande de porc en Pologne, boudin et charcuteries en Allemagne).

Enfin, l'homme est également exposé à l'OTA par l'intermédiaire du lait maternel : dans une clinique de Rome, 15 échantillons de lait ont été analysés, 9 contenaient de l'OTA à des taux compris entre 1,7 et 6,6 ng/ml (54). Cependant, des recherches sur de plus grands nombres d'échantillons seraient nécessaires.

Ces études et ces considérations conduisent à une évaluation de la consommation journalière probable d'OTA (PDI).

En Allemagne, H.K.FRANK a calculé le PDI en se basant sur les résultats de dosages rapportés dans la littérature à savoir (25) :

- céréales (sauf maïs) et produits dérivés : les études retenues sont celles menées sur des échantillons randomisés en excluant les résultats d'échantillons visiblement moisissés pour éviter d'avoir trop de valeurs positives. Sur 110 échantillons, 10,3% étaient contaminés à une moyenne de 3,8 µg/kg.

- maïs et produits dérivés : sur 1539 échantillons, 5,1 % contenaient de l'OTA à une concentration moyenne de 77,6 µg/kg.

- boudin et charcuteries : 325 échantillons, 17,8 % de contamination à une moyenne de 0,15 µg/kg.

- n'ont pas été évalués : la bière, le café, le poisson séché, les noix, l'huile d'olive ainsi que les produits visiblement moisissés (pain et farines qui ne sont alors généralement pas consommés).

Chaque personne consomme en moyenne, par jour :

- 205 g de céréales dont 10,3 % soit 21 g est contaminé par 79 ng d'OTA.

- 37 g de boudin ou charcuteries soit 1 ng d'OTA.

Soit un total de 80 mg d'OTA consommé par jour, représentant environ 1 ng/kg corporel/j .

Les personnes consommant régulièrement des produits dérivés du maïs tels que les corn-flakes (essentiellement les enfants) soit 40 g/j ont un apport d'OTA supplémentaire de 154 ng/j (ou 2ng/kg corporel/j).

Ce chercheur estime que le PDI est certainement inférieur en Europe du Sud, supérieur en Europe du Nord et 2 à 3 fois plus élevé dans les régions bordant le Danube.

Les quantités d'OTA consommées dans les régions hyperendémiques de NEB et de tumeurs rénales n'ont pas été déterminées car les habitudes alimentaires individuelles et collectives sont peu connues. Les personnes y résidant consomment généralement leur

propre production céréalière : il faut tenir compte du fait que la distribution des mycotoxines dans un stock de faible capacité est extrêmement peu homogène (26).

Les études menées au Canada ont montré que le taux d'exposition à l'OTA serait probablement de moins de 1,5 ng/kg corporel/j en moyenne, ne dépassant pas 3,5 ng/kg/j (47).

De plus amples contrôles des céréales et dérivés, des denrées d'origine animale, avec de meilleures limites de détection se développent et devraient permettre une estimation de l'exposition de l'homme à l'OTA plus précise.

## **V - 2 - EVALUATION DES RISQUES (18, 26, 48, 52, 77)**

Les risques encourus par l'homme exposé à l'OTA restent difficiles à évaluer puisque des expériences toxicologiques ne peuvent être menées chez l'homme et que les données épidémiologiques concernant l'implication de l'OTA dans la NEB sont insuffisantes.

Il faut donc considérer les études de toxicité menées chez l'animal et effectuer une extrapolation des résultats de l'animal à l'homme, avec pour but l'estimation d'une dose ne représentant pas de risque : le "Tolerable Daily Intake" : TDI (48).

Les extrapolations se font à partir des hautes doses testées chez l'animal mais il est nécessaire également d'utiliser des doses plus faibles (ce qui n'est généralement pas fait afin d'augmenter les chances d'apparition d'un effet toxique chez l'animal testé ! ), doses auxquelles l'homme peut être exposé.

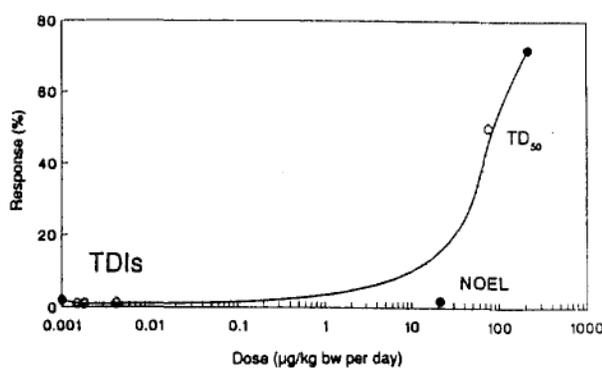
L'extrapolation au niveau des aspects biologiques (telle la demie-vie sanguine de la toxine) reste la plus difficile.

Les deux approches majeures du TDI passent par :

- la définition numérique du NOEL (no-observed-effect-level) : dose à laquelle aucun effet n'est observé.

- la définition numérique du VSD (virtually safe dose) : approche mathématique de l'estimation du risque.

- la définition numérique du TD<sub>50</sub> : dose à laquelle 50 % des animaux testés présentent une tumeur si le composé testé est donné pendant un laps de temps correspondant à une durée de vie "standard" (24 mois chez les rongeurs).



**Figure 11** - Courbe dose/réponse chez le rat mâle dans l'induction de tumeurs rénales (48).

\* Le NOEL :

Il est déterminé, et un facteur de sûreté est choisi afin de tenir compte des résultats empiriques de l'extrapolation. Cette approche inclut également un "facteur d'incertitude" lorsque les données expérimentales sont incomplètes ou lorsque la dose minimale testée n'a pas d'effet.

Pour les effets autres que carcinogènes, ces facteurs sont compris entre 100 et 1000. Pour les effets carcinogènes, ils sont de 1000 à 5000 car leur sont ajouté un 3<sup>ème</sup> facteur afin de tenir compte de la sévérité et de l'irréversibilité de la maladie.

Le TDI calculé sur la base du NOEL (21 µg/kg corporel/j chez le rat mâle) divisé par 5000 est de 4,2 chez le rat mâle et de 26 ng/kg corporel/j chez la souris mâle.

\* Le VSD :

Il permet d'estimer le risque encouru face à de très petites doses de substances carcinogènes pour lesquelles il est considéré qu'il n'y a pas de seuil au dessous duquel ne pourrait apparaître la formation de tumeur.

Il tient compte également du pouvoir statistique insuffisant des expériences animales lors d'études de maladies rares, sévères et irréversibles.

Le TDI calculé à partir du VSD est de 1,8 ng/kg/j pour un risque de  $10^{-5}$  (1 personne atteinte sur  $10^5$  personnes).

\* Le TD50 :

KUIPER-GOODMAN a proposé l'utilisation du TD50 divisé par 50.000 comme autre moyen d'estimation du TDI. Le TDI ainsi calculé est de 1,5 ng/kg/j chez le rat mâle et de 81 ng/kg/j chez la souris mâle.

Ces estimations du TDI de l'OTA sont basées sur des études de carcinogénicité. Celui-ci peut également être déterminé sur la base d'autres lésions.

Ainsi, l'OMS en 1990 définit un TDI basé sur le LOEL (lowest-observed-effect-level), la plus faible dose ayant un effet sur le rein chez le porc, auquel un facteur de sûreté de 500 a été appliqué. Plutôt que d'utiliser le terme TDI, l'OMS préfère celui de "provisional tolerable weekly intake", consommation prévisionnelle par semaine, afin de niveler les grandes différences journalières dans la consommation d'OTA (77).

Il a été évalué à 112 ng/kgcorporel/semaine sur la base d'un LOEL de 0,008 mg/kg/j chez le porc.

Ainsi, pour KUIPER-GOODMAN, le TDI est inférieur à 5,7 ng/kg/j, pour l'OMS, il est de 112 ng/kg/semaine soit environ 16 ng/kg/j.

Signalons tout de même que les valeurs de PDI définies (environ 1 ng/kg/j en Europe centrale) sont inférieures aux TDI calculés. Elles sont très différentes des doses

provoquant un effet toxique chez l'animal de laboratoire : chez le rat, la plus faible dose (LOEL) néphrotoxique est 10.000 fois supérieure et celle augmentant la fréquence d'apparition de tumeurs est 70.000 plus forte (LOEL = 70 µg/kg/j) (26).

Cependant, la forte liaison de l'OTA aux protéines plasmatiques, sa probable longue demie-vie (chez le singe Rhésus, elle est de 510 heures) comparée à celle du rat (de 55 à 120 heures) suggère la forte probabilité pour que l'OTA soit considérablement plus toxique pour l'homme que pour le rat (52).

L'OTA a été classée dans le groupe 2B (produits considérés comme carcinogènes possibles pour l'homme) par le groupe de travail des monographies du CIRC (centre international de recherche sur le cancer, également appelé IARC) (18).

### **V - 3 - FACTEURS DE RISQUE**

Il semble raisonnable de penser que le caractère et l'intensité de la réponse humaine à l'exposition varient, dépendant de facteurs tels que l'âge, le sexe, le statut nutritionnel ...(35).

#### **V - 3 - 1 - Risques liés à la dose et à la durée d'exposition (30,35).**

Par extrapolation des résultats obtenus chez les Primates, il est permis de penser que l'OTA présente une forte rémanence chez l'homme consécutivement à une longue demie-vie.

La prise journalière de petites doses sur une longue période, tout comme l'ingestion épisodique de grandes quantités semblent donc pouvoir conduire à une accumulation d'OTA dans l'organisme.

### V - 3 - 2 - Risques liés à l'âge.(30, 76)

Les risques sont accrus chez :

\* le très jeune enfant chez qui la flore intestinale, encore immature est incapable de métaboliser l'OTA en OT $\alpha$  atoxique.

\* la personne âgée qui présente très souvent des fonctions organiques altérées. On estime que 50 % d'une population âgée de 80 ans a perdu 50 % de sa fonction rénale par vieillissement du rein. On observe également une moindre capacité de réparation des lésions par perte de la réponse aux facteurs de croissance (31).

Les études épidémiologiques concernant la NEB ont montré que la maladie ne touche pas les enfants ni les adolescents mais préférentiellement les personnes entre 30 et 60 ans (75).

### V - 3 - 3 - Risques liés au sexe

Dans la NEB, l'atteinte féminine semble prépondérante (16).

Une étude concernant les altérations chromosomiques observées dans des lymphocytes de patients atteints de NEB a révélé que le chromosome X est le chromosome le plus souvent atteint (51).

D'autre part, le tissu adipeux (site de stockage favorable pour l'OTA ) est normalement plus important chez les femmes (76) .

Aucun cas d'embryotoxicité due à l'OTA n'a été rapporté chez l'homme , cependant il est préférable de rester vigilant (76).

### V - 3 - 4 - Risques liés à l'alimentation (30, 76)

Les risques sont fonctions des habitudes alimentaires :

- grands mangeurs de viande de porc, d'abats.
- grands mangeurs de céréales et dérivés (corn-flakes, pain ....).
- le lait : chez l'enfant pour le lait de vache et le lait maternel, mais des études plus poussées sont nécessaires à l'évaluation de leur contamination.

D'autre part, l'alimentation peut être un facteur de variation de la toxicité par interaction avec :

- \*le pH du système digestif
- \*la vidange gastrointestinale

\* Variation du pH digestif.

Toute baisse du pH dans le tube digestif favorise une résorption accrue de l'OTA qui nécessite d'être sous forme non ionisée pour passer dans le flux sanguin.

Les aliments acides vont donc favoriser la résorption (telle que la bière, pouvant d'ailleurs être elle-même contaminée par l'OTA).

Les aliments qui augmentent le pH, provoquent au contraire une ionisation de la molécule et diminuent sa biodisponibilité.

\* Vidange gastrointestinale

Si l'on retient que l'absorption de l'OTA est prépondérante au niveau de l'estomac, tout aliment entraînant une modification de la vidange gastrique conduit à une variation de la quantité d'OTA réabsorbée.

Ainsi, plus celle-ci est rapide, moins l'OTA est absorbée, et vice-versa.

Par ailleurs, on sait que plus l'estomac est plein, plus la vidange est rapide. Donc, la résorption de l'OTA est d'autant plus importante que l'estomac est vide.

Il en est de même si l'on considère l'absorption intestinale de l'OTA (au niveau du jéjunum essentiellement) . Un péristaltisme intestinal accéléré permet de diminuer le passage dans le sang de la toxine.

Enfin, une alimentation trop riche en protéines, met à contribution le rein, favorisant la néphrotoxicité (3).

### V - 3 - 5 - Risques liés à des pathologies associées.(3, 76)

#### - pathologie rénale

Il est possible que des attaques par l'OTA puissent déterminer ou aggraver des lésions au niveau du rein chez les sujets prédisposés. De plus, de petites quantités d'OTA sont nuisibles pour des reins antérieurement malades. En effet, les malades atteints de néphropathie éliminent moins facilement la néphrotoxine.

#### - pathologie intestinale

Une destruction de la flore intestinale par certaines substances diminue l'hydrolyse de l'OTA en OT $\alpha$  atoxique et augmente donc le risque de toxicité.

#### - autres pathologies

Toute maladie entraînant une variation de la protéinémie peut influencer la toxicité de l'OTA : une hypoprotéinémie provoquant une hausse du taux d'OTA libre dans le sang; une hyperprotéinémie engendrant une rémanence accrue de la toxine.

Le myélome multiple accentue la toxicité de l'OTA en créant une surcharge en protéines pour le rein.

### V - 3 - 6 - Risques liés à l'association de plusieurs mycotoxines

En effet, des contaminations multiples par des mycotoxines ont été retrouvées, par exemple en Bulgarie (60).

#### - OTA et citrinine

La citrinine est un cométabolite de l'OTA possédant également des propriétés néphrotoxiques. Associée à l'OTA, elle favorise l'apparition de tumeurs rénales chez la souris et le porc (76).

#### - OTA et acide pénicillique

L'acide pénicillique est également un cométabolite de l'OTA (76). *In vivo*, elle inhibe la carboxypeptidase A, enzyme pancréatique effectuant le clivage de l'OTA en OT $\alpha$  atoxique.

- OTA et aflatoxines

Les aflatoxines potentialisent l'effet carcinogène de l'OTA sur le foie (41)

V - 3 - 7 - OTA et xénobiotiques(19, 31, 49)

Par ses propriétés, l'OTA est susceptible d'interférer avec la distribution, la métabolisation ou l'élimination des substances xénobiotiques (31).

- Incidence sur l'absorption et la distribution.

Le problème se pose si l'on considère l'absorption active de la toxine au niveau du jéjunum, susceptible de conduire à des compétitions avec des substances transitant par le même transporteur.

Une fois la mycotoxine absorbée, le fait majeur de sa distribution sanguine demeure sa faculté de liaison aux protéines plasmatiques. L'OTA se fixe essentiellement sur la sérum albumine et peut ainsi entrer en compétition avec les nombreux médicaments connus pour les mêmes propriétés (voir Tableau 10).

<b>POURCENTAGE DE LIAISON</b>	<b>MEDICAMENTS</b>
100 - 98	phénylbutazone ibuprofène sulfaphénazole
98 - 95	acide nalidixique indométacine tolbutamide warfarine
95 - 85	oxacilline éthylbiscoumacétate probénécide

**Tableau 10** - Pourcentage de liaison de quelques médicaments à l'albumine plasmatique.

Les déplacements peuvent être réciproques, en fonction des affinités et des concentrations respectives. Les conséquences consistent soit en une libération d'OTA à la suite d'une prise médicamenteuse (AINS, anticoagulants) ou en une augmentation de la forme libre d'un médicament ayant une moindre affinité, avec de possibles répercussions sur sa distribution et son activité pharmaco-toxicologique.

- Incidence sur les biotransformations hépatiques.

L'OTA est connue pour réduire le métabolisme oxydatif hépatique et notamment certaines formes du cytochrome P450, limitant le catabolisme de certains xénobiotiques (31, 49).

De même, toute substance qui inhibe les enzymes du métabolisme peut potentialiser l'effet toxique de l'OTA en diminuant sa biotransformation. C'est le cas, par exemple, du pipéronylbutoxyde qui est un insecticide (19).

Toutefois, des études complémentaires sont indispensables à l'identification définitive des isoenzymes du cytochrome P450 responsable de la métabolisation de la toxine et des xénobiotiques, et à une meilleure appréciation des interactions métaboliques entre l'OTA et d'autres xénobiotiques.

- Incidence sur l'excrétion biliaire et rénale

L'OTA subit un cycle entérohépatique du à son élimination biliaire associée à une importante résorption intestinale.

Une telle mise en circulation de la toxine dans l'organisme entraîne des perturbations dans le devenir d'autres molécules (49).

Ainsi, l'ochratoxicose provoque un défaut d'excrétion biliaire de la tétracycline et du chloramphénicol.

D'autre part, il a été démontré que la cholestyramine, agent séquestrant les acides biliaires, pouvait limiter la circulation entérohépatique de la toxine.

L'élimination urinaire de l'OTA passe par une phase finale de réabsorption tubulaire. A ce niveau, de nombreux médicaments sont susceptibles d'entrer en compétition et de modifier l'élimination de la toxine ou encore de voir leur excrétion urinaire perturbée par la présence de celle-ci (49).

Le tableau 11 dresse une liste de quelques médicaments reconnus pour être activement sécrétés dans le tubule proximal.

### MÉDICAMENTS

céphaloridine  
furosémide  
indométacine  
pénicillines  
phénylbutazone  
diurétiques thiazidiques

### MÉTABOLITES

conjugués glucuronides  
conjugués à la glycine  
conjugués sulfates

**Tableau 11** - Médicaments et métabolites sécrétés par transport actif dans les tubules proximaux du rein.

Le probénécide coadministré avec l'OTA provoque une néphrotoxicité et une rémanence tissulaire accrue de la toxine (49).

## **VI - ELEMENTS DE PHARMACOCINETIQUE.**

### **VI - 1 - RESORPTION DE L'OTA ET SON DEVENIR SANGUIN.**

#### **VI - 1 - 1 - Résorption gastrointestinale(30, 35, 52).**

Le groupement hydroxy-phénolique de la partie isocoumarinique de l'OTA ainsi que le groupement carboxylique de la phénylalanine sont responsables des propriétés acides de la toxine (52).

Celle-ci peut ainsi exister sous forme ionisée ou non ionisée en milieu aqueux. La diffusion de la forme non ionisée d'une molécule à travers la membrane lipidique est généralement considérée comme le mécanisme essentiel du transfert de la lumière du tube digestif vers le plasma : c'est le cas pour l'OTA (30).

Le groupement hydroxy-phénolique de l'OTA joue un rôle primordial dans l'absorption de l'OTA. Il se présente sous forme non ionisée dans un milieu de faible pH. Le pH du tube digestif affecte donc la résorption de l'OTA : elle est maximale dans les portions du tractus gastrointestinal où règne un pH bas.

De nombreux chercheurs ont montré que la résorption de l'OTA se fait principalement dans l'estomac, par diffusion passive. Toutefois, une investigation récente a montré qu'elle est également absorbée à partir du jéjunum de rat anesthésié même lorsque sa concentration plasmatique s'avérait supérieure à celle du contenu jéjunal. Ce processus semble donc relever d'un transport actif.

Cependant, LEEL a suggéré que l'absorption d'OTA administrée par voie orale chez la souris s'effectue pour une grande partie dans le duodénum et à un moindre degré dans le jéjunum.

Le taux d'absorption de l'OTA varie de 40 à 60 % (35).

### VI - 1 - 2 - Transport sanguin(30, 52).

Le plasma se révèle être plus riche en toxine que les cellules sanguines qui n'en contiennent que quelques traces (30).

La fixation protéique de l'OTA est très forte, de l'ordre de 95 % dans le plasma de rats intoxiqués. L'OTA se fixe à la sérum albumine (2,2 moles d'OTA par mole d'albumine) avec une constante d'association de l'ordre de  $10^5$  /M et à des protéines plasmatiques de faible poids moléculaire, encore inconnues, de façon plus spécifique avec une constante d'association de l'ordre de  $10^{10}$  /M (52).

Enfin, une très faible portion d'OTA se retrouve sous forme libre : moins de 0,2 % chez les mammifères et les oiseaux (52).

Cette fixation protéique implique :

- un phénomène de rémanence plasmatique de la toxine par diminution de son élimination, entraînant un délai d'action toxique prolongé : l'OTA liée à l'albumine ne peut franchir la membrane glomérulaire.

- une absorption gastrointestinale facilitée.

- une accumulation d'OTA dans le rein lorsque l'on considère la fixation sur les protéines de faible poids moléculaire, protéines capables de franchir la membrane des glomérules.

- un risque de libération massive de la toxine dans l'organisme, à la suite d'une brusque défixation protéique sous l'effet de compétiteurs de la toxine au niveau de son site de fixation (molécules médicamenteuses par exemple).

### VI - 1 - 3 - Eléments de cinétique.(28, 30).

L'OTA administrée par voie orale à des animaux est rapidement absorbée mais lentement éliminée.

Des études ont permis de définir, chez différentes espèces animales, les paramètres pharmacocinétiques suivants : concentration maximale atteinte et sa position dans le temps, la demie-vie sanguine et sa biodisponibilité (voir tableau 12).

ESPECE ANIMALE	POIDS CORPOREL (kg)	DOSE (mg/kg)	Cp max ( $\mu\text{g/ml}$ )	T max (h)	T 1/2 (h)	F (%)
Rat	0,25	2,5	25,2	1	57,7	67
	0,25-0,30	0,05	0,39	--	120	44
Souris	0,02	0,05	0,37	--	39	57
Singe	--	0,05	0,50	--	510	57
Porc	35	0,5	1,74	10	88,8	66
Poulet	1,8	2	0,78	0,33	4,1	40
Carpe	1	0,05	0,014	--	0,68	1,6

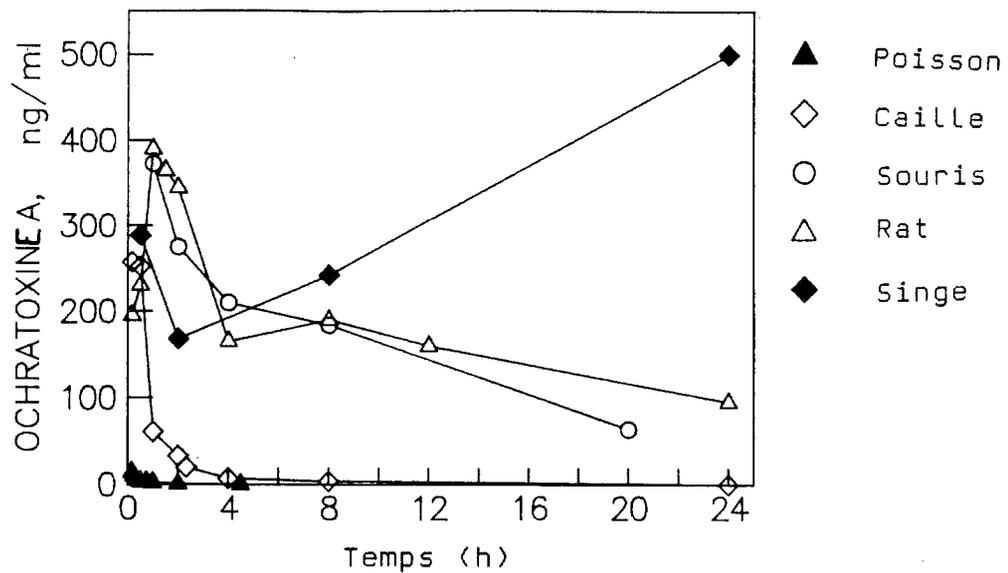
avec : Cp max : pic de concentration de la toxine dans le plasma  
T max : position de ce pic dans le temps  
T 1/2 : demie-vie de la toxine  
F : biodisponibilité  
-- : non déterminé

**Tableau 12** - Paramètres pharmacocinétiques de l'OTA chez l'animal après administration orale (30).

Les résultats montrent clairement que ces paramètres sont dose-dépendants et qu'il existe de grandes différences entre les espèces.

Les demie-vies les plus longues sont retrouvées chez les animaux tels que le singe (510 heures), le porc (88,8 heures), le rat (57,7 heures), (qui présentent donc un risque d'accumulation de la toxine dans leur organisme lors d'administrations répétées) et les plus courtes chez la volaille (4,1 heures chez le poulet) et les poissons qui éliminent presque instantanément la toxine (0,68 heure chez la carpe).

Des résultats similaires se retrouvent lorsque l'administration se fait par voie intraveineuse (voir figure 12).



**Figure 12** - Concentrations plasmatiques d'OTA chez le poisson, la caille, la souris, le rat, le singe après une administration intraveineuse de 50 ng/g corporel d'OTA (28).

La biodisponibilité avoisine généralement les 60 %, sauf chez le poulet (40 %) et le poisson (seulement 1,6%).

## VI - 2 - DISTRIBUTION TISSULAIRE DE L'OTA.

Lors d'études menées chez des rongeurs et divers animaux d'élevage (volaille, porc), des traces de toxine ont été révélées au niveau :

- du cerveau
- des poumons
- du coeur
- de la rate
- des testicules
- des intestins
- de la moëlle osseuse

- de la peau
- des yeux
- des glandes salivaires

Mais des concentrations plus élevées sont retrouvées dans :

- le sang
- les reins
- le foie
- les muscles
- le tissu adipeux

par ordre de concentrations décroissantes (13, 30).

Dans le rein, la majeure partie d'OTA se localise à l'intérieur du cytoplasme des cellules des tubes contournés proximaux. La toxine est également retrouvée dans l'épithélium des tubes distaux, de l'anse de Henlé, de la capsule de Bowman et des glomérules (30).

Dans le foie, l'OTA se concentre principalement dans les hépatocytes de la zone périportale, se localisant préférentiellement dans leur cytoplasme (30).

### **VI - 3 - METABOLISME DE L'OTA**

♦ L'OTA est hydrolysée en OT $\alpha$ , métabolite majeur, libérant une molécule de phénylalanine. Cette hydrolyse est effectuée selon la réaction suivante (30) :



\* *in vivo*, par des enzymes pancréatiques protéolitiques comme la carboxypeptidase A, l'alphachymotrypsine.

\* par des homogénats d'intestin grêle, de côlon.

Des études de la clairance de l'OTA ont démontré que la présence d'un antibiotique à large spectre dans l'alimentation diminue l'excrétion d'OT $\alpha$  dans les urines.

Ces résultats indiquent que la flore microbienne chez les animaux non ruminants est responsable de l'hydrolyse de l'OTA en OT $\alpha$ .

\* par les microorganismes présents dans le rumen chez les ruminants.

Après centrifugation du jus du rumen, seule la fraction contenant les microorganismes est capable d'effectuer une hydrolyse de la toxine tandis que le surnageant stérile ne transforme ni ne détruit l'OTA.

La majeure partie d'OTA ingérée par les ruminants est métabolisée en OT $\alpha$  inactive, ceci explique le fait que ces animaux soient peu sensibles à l'OTA.

On retrouve l'OT $\alpha$ , *in vivo*, dans la plupart des organes ainsi que dans l'urine, la bile et les selles.

◆ L'OTA est également métabolisée par le système microsomal des monooxygénases à cyt. P450 (30).

Les microsomes hépatiques humains et de porc provoquent la formation des isomères (4S)- et (4R)- de l'hydroxyOTA, les rapports des deux dépendant de l'espèce. Chez l'homme et le rat, le métabolite majeur est l'isomère (R) alors que chez le porc, c'est l'isomère (S) qui prédomine (19).

Incubée avec des microsomes hépatiques de lapin, l'OTA est métabolisée en un dérivé 10-hydroxylé en plus des dérivés 4-hydroxylés (19).

Il est maintenant acquis que 2 isoformes du cyt.P450 au moins interviennent dans la détoxification de l'OTA : les cyt.P450 Ia et IIb (19).

◆ L'OTA peut également subir une estérification conduisant à la formation d'OTC. Ceci se produit chez les ruminants, au contact du jus du rumen (30).

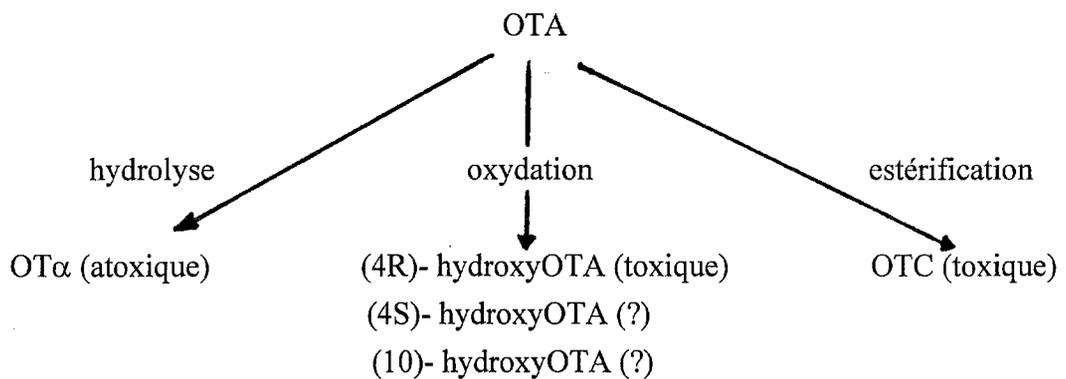
◆ Au niveau du foie, l'ochratoxine est transformée essentiellement en ochratoxine conjuguée (glucuroconjugaison et sulfoconjugaison) et excrétée sous cette forme dans l'urine (30).

L'hydroxylation de l'OTA présente un polymorphisme chez les souches de rats (57). Ainsi, les souches Dark-Agouti métabolisent la mycotoxine 3-4 fois moins dans le foie et les reins que les souches Lewis (19).

Ce taux de transformation de l'OTA se superpose à celui de la débrisoquine, et il existe un parallélisme entre la capacité à hydroxyler la débrisoquine et la sensibilité à l'OTA concernant sa cancérogénicité chez le rat. Il reste donc à établir une relation entre le degré d'hydroxylation de l'OTA et sa toxicité, tout d'abord chez le rat, puis chez l'homme.

Des études ont déjà montré que les patients atteints de NEB et/ou de tumeurs rénales présentent un fort taux de métabolisation de la débrisoquine (15).

Rappelons enfin que l'OT $\alpha$  n'est pas toxique, mais la (4R)-hydroxy OTA s'est montrée aussi toxique que l'OTA et aussi immunosuppressive. *In vitro*, elle inhibe au même niveau la synthèse protéique. La forme (S) n'a pas été étudiée car elle n'a pas pu être isolée en quantité suffisante. L'OTC est aussi néfaste que l'OTA.



#### **VI - 4 - VOIES D'ELIMINATION DE L'OTA ET DE SES METABOLITES.**

##### **VI - 4 - 1 - Elimination dans les urines et fécès.(30, 52).**

L'OTA est excrétée principalement dans les urines, sous forme d'OT $\alpha$  et à un moindre degré sous forme d'OTA. De très faibles quantités d'OT $\alpha$  et OTA sont retrouvées dans les fécès.

Chez le rat ayant reçu 66 mg/kg corporel d'OTA, 25 à 27 % de la dose se retrouve dans les urines sous forme d'OT $\alpha$ , 1% à 1,5 % sous forme de 4-hydroxyOTA et 6 % sous forme inchangée.

Chez l'homme, la 4-hydroxyOTA n'a pu être détectée sous sa forme libre dans l'urine mais est peut-être présente en tant que dérivés conjugués (15).

Le mécanisme de l'excrétion rénale de l'OTA a été très étudié du fait de ses propriétés néphrotoxiques.

L'OTA éliminée dans les urines est filtrée au niveau du glomérule. Elle est sécrétée puis réabsorbée au niveau du tube proximal, facilitant son retour dans le plasma et sa persistance dans le rein et probablement dans l'organisme. Ce phénomène pourrait être responsable de l'expression de la toxicité de l'OTA sur le rein.

Il a été suggéré que l'OTA pénètre dans les cellules du tube proximal par le système de transport des anions, en inhibant de façon compétitive le transport du para-aminohippurate.

#### VI - 4 - 2 - Elimination biliaire (30).

L'excrétion biliaire de l'OTA atteint son maximum 1 à 2 heures après l'administration à des rats.

L'OTA se localise principalement dans la lumière des canaux biliaires et non à l'intérieur des cellules.

Après administration d'une dose faible d'OTA marquée au  $^3\text{H}$ , à des souris, ont été observées des variations oscillatoires de radioactivité dans le plasma conduisant à l'hypothèse d'un cycle entérohépatique de l'OTA. Ceci fut confirmé par une 2<sup>ème</sup> expérience : la bile de rats ayant ingéré de l'OTA a été administrée à d'autres rats, par gavage, directement dans l'estomac ou dans le duodénum. Il s'est avéré que le taux plasmatique d'OTA était supérieur lorsque la bile était placée directement dans le duodénum (30).

L'OTA possède donc bien un cycle entérohépatique, ce qui a pour conséquence la rémanence de la toxine dans l'organisme

#### VI - 4 - 3 - Transfert placentaire de l'OTA

L'OTA a été détectée dans le placenta de truies pleines.

Lors d'une expérience, l'OTA a été administrée 4 jours avant la parturition, des résidus ont été retrouvés dans les muscles, le foie, les poumons des porcelets nouveaux-nés (30).

Après une injection intraveineuse de toxine à une brebis, l'ochratoxine n'a pu être mise en évidence dans le liquide amniotique mais dans les tissus foetaux à des taux compris entre  $1/1000^e$  et  $1/400^e$  de la concentration dans le sang maternel (30).

Chez la souris ayant reçu de l'OTA marquée au  $^{14}C$  en intraveineuse, la toxine passe la barrière placentaire au 9<sup>e</sup> jour de gestation, correspondant à un risque tératogène maximal.

#### VI - 4 - 4 - Excrétion dans le lait et les oeufs

L'OTA a été détectée dans le lait de lapine, de truie ayant reçu de la toxine en intraveineuse ou par voie orale (30).

Chez des vaches laitières auxquelles a été administrée une dose de 50 ou 1000 mg pendant 4 jours, de l'OT $\alpha$  a été découverte dans le lait mais l'OTA elle-même n'était présente que chez les animaux ayant reçu la plus haute dose (30).

Enfin, il a été montré récemment que l'OTA est présente dans des oeufs de poules contaminées (30).

## **VII - MODULATION DE L'EXPOSITION A L'OTA CHEZ L'HOMME ET L'ANIMAL**

### **VII - 1 - LUTTE CONTRE LA PRESENCE D'OCHRATOXINES DANS L'ALIMENTATION.**

#### **VII - 1 - 1 - Prévention de la contamination et du développement fongique.**

La lutte contre la présence d'OT dans l'alimentation passe d'abord par la mise en oeuvre de tous les moyens visant à empêcher la colonisation des denrées par les champignons (6).

##### **◆ Avant la récolte**

Les moyens de lutte ne peuvent passer que par le choix de variétés de céréales séchant plus facilement, s'endommageant moins lors de leur manipulation et plus résistantes aux attaques des insectes et des champignons (2).

##### **◆ Après la récolte.**

\* Bien que vouloir empêcher la contamination fongique relève de l'utopie, il est essentiel d'éviter une surinfection des grains par des contacts intempestifs avec le sol et du matériel souillé. De plus, ces contacts sont générateurs de blessures qui favoriseront ensuite la pénétration fongique (6).

Lorsque la contamination fongique ne peut être évitée, il est impératif d'inhiber la germination des conidies et le développement des hyphes. De ce point de vue, le séchage mais surtout le stockage des denrées alimentaires constituent souvent des périodes à haut risque (6).

\* Des produits d'activité en eau ( $a_w$ ) faible ( $< 0,70$ ) théoriquement impropres au développement fongique ne seront réellement à l'abri des moisissures que si leur  $a_w$  est en tout point, spécialement en surface, constamment inférieure à 0,70 (6).

Ainsi, lors du stockage, l'humidité relative atmosphérique des locaux doit rester égale à celle du produit stocké et si possible inférieure à 70 % (6).

De plus, il est important de maintenir dans le lieu de stockage une atmosphère riche en CO<sub>2</sub> et pauvre en O<sub>2</sub> (71).

La température est également un paramètre important à contrôler, elle doit être la plus basse possible afin d'éviter au maximum le développement fongique et la production d'OTA.

Il faut également éviter la contamination du stock par les insectes. Ceux-ci, en effet, engendrent par leurs activités métaboliques une augmentation d'humidité et de température, détruisent l'enveloppe protectrice des graines et favorisent la dispersion des champignons dans tout le stock (71).

Le stockage doit donc se faire dans des endroits secs et froids, fermés hermétiquement (19).

\* Il est préférable avant le stockage d'abaisser le taux d'humidité dans les céréales afin de diminuer leur  $a_w$ . On réalise pour cela un séchage.

Diverses méthodes sont utilisées (71):

- à haute température : le principe est de soumettre le grain à de l'air chaud pulsé. Le séchage par cette technique ne doit pas être excessif afin d'éviter la fissure des grains. Très utilisé pour le maïs aux Etats-Unis.

- à température ambiante : cette méthode utilise l'air ambiant envoyé sous pression. Elle présente divers inconvénients (39) : le grain n'est séché que superficiellement, le séchage est plus long et son efficacité dépend des conditions climatiques. Pour y remédier, le séchage est achevé sous température ambiante augmentée de 1,5 - 5,5 °C.

## VII - 1 - 2 - Décontamination fongique et détoxification

- Les antifongiques

En France, et en alimentation humaine, l'utilisation des additifs antifongiques (acide propionique, acide sorbique) n'est autorisée que pour les emballages, mais leur activité sur les champignons est souvent incertaine (6, 21).

- Les fumigants (6, 10, 21, 52).

\* L'ammoniation : concernant son efficacité, les résultats restent controversés. Une première étude a montré que le traitement des céréales par l'ammoniac était très efficace, réduisant la concentration d'OTA à l'état de traces et détruisant la moisissure. Cependant, une seconde équipe de recherche a affirmé que les conditions d'emploi de l'ammoniac étaient trop strictes, rendant ce procédé impraticable en routine (l'orge traité par 5 % de NH<sub>3</sub> devait être placé pendant 96 heures à une température de 70 °C) (52).

\* L'oxyde d'éthylène, le bromure de méthyl, le phosphore d'hydrogène sont d'un emploi plus souple et sont doués d'un pouvoir fongistatique et fongicide puissants.

- Les radiations

Elles restent le moyen le plus approprié pour les produits de petit volume, emballés (donc protégés d'une recontamination) tels que les épices, les condiments (6, 21).

- \* Le rayonnement ultraviolet :

DEBERGHES P. a montré dans une étude que les UVB sont efficaces en milieu liquide pour empêcher la moisissure de proliférer et de produire de l'OTA (20).

- \* Le rayonnement gamma :

Il est également efficace pour empêcher la production d'OTA en détruisant le champignon, en milieu liquide ou solide, à condition d'appliquer la dose suffisante de 2 à 3 KGy en milieu solide, 4 à 5 KGy en milieu liquide.

Les rayonnements gamma sont également capables de détruire directement l'OTA en milieu liquide (20).

Notons que lors de l'emploi des fumigations et des rayonnements, il est impératif d'éviter toute recontamination ultérieure. En effet, en cas de recontamination d'un produit traité par l'un de ces procédés, le développement fongique et la synthèse d'OTA seront facilités. J. BORSA l'explique par le fait que ces traitements détruisent les champignons toxigènes mais également la microflore qui leur sont associée. En cas de réinfestation, celle-ci ne sera plus présente pour entrer en compétition avec la moisissure toxigène dont le développement sera ainsi facilité (voir chapitre I-3-3)(10).

- La congélation.

Elle n'est qu'un procédé de conservation pour les conidies, ne garantissant qu'un effet fongistatique (6).

Cependant, P. DEBERGHES a montré que les congélations et décongélations répétées à -20°C réduisent la masse mycélienne totale d'un inoculat d'*A. ochraceus*, bien que la production d'OTA ne soit réduite que de 10 à 45 % (20).

- Traitement par la carboxypeptidase A.

La carboxypeptidase, enzyme d'origine pancréatique clivant l'OTA en OT $\alpha$  atoxique est très efficace en milieu liquide pour détruire l'OTA produite, à la concentration de 4 à 5 U/l (20).

P. DEBERGHES affirme que l'utilisation des rayonnements UVB et gamma, du procédé de congélation-décongélation et de la carboxypeptidase devrait être rapidement applicable dans les industries agroalimentaires (laiterie, brasseries, distilleries, stockage des céréales, préparation d'aliments pour le bétail) après la mise en place de protocoles d'application pour chaque denrée. Cependant concernant la carboxypeptidase, il reste à confirmer son innocuité chez l'homme à de telles concentrations (20).

- Devenir de l'OTA lors de l'utilisation de denrées contaminées.

\* L'ensilage :

Une étude a montré que l'ensilage de blé contaminé favorise une diminution de la concentration d'OTA de 50 % par conversion, semble-t-il, en un dérivé non détecté ou par complexation avec la matière organique (52).

\* Effet de la cuisson sur l'OTA :

La cuisson ne semble pas détruire la toxine. En effet, l'OTA en milieu aqueux, soumise pendant 15 mn à une température de 135 °C n'est pas détruite (46).

\* Traitement du café vert (55):

La torréfaction des grains de café verts contaminés permet une destruction importante de l'OTA (de 90 à 100 %).

De même, le procédé de décaféinisation (passage des grains à la vapeur et extraction de la caféine par un solvant) abaisse la concentration d'OTA de 60 % ; après torréfaction, le café ne contient alors plus de toxine.

Enfin, la possibilité d'une migration de la toxine dans le café "boisson" a été exclue.

\* Fabrication du chocolat (55):

Le traitement de fèves de cacao contaminées, pour la fabrication de chocolat au lait et noir détruit à plus de 99 % la toxine.

## **VII - 2 - PREVENTION DES EFFECTS TOXIQUES DE L'OTA.**

### **VII - 2 - 1 - Limiter l'absorption gastrointestinale de l'OTA.**

#### **- Intérêt de l'aminosilicate de calcium et sodium (2, 40).**

C'est un produit utilisé pour réduire la résorption gastrointestinale des aflatoxines (mycotoxines produites par *A. flavus*).

Testé sur l'OTA, il s'est avéré inefficace à diminuer sa biodisponibilité et sa toxicité.

#### **- Intérêt du charbon activé (2, 52).**

L'addition de 10 % de charbon activé à des aliments contaminés permet de réduire de 50 à 80 % les concentrations d'OTA dans le sang, le foie, les reins, la rate et le coeur, chez la souris.

Le charbon activé présente donc un intérêt mais ne peut être utilisé continuellement, en prophylaxie.

### **VII - 2 - 2 - Favoriser l'élimination de l'OTA.**

#### **- Intérêt de la cholestyramine (52).**

La cholestyramine (QUESTRAN®) est une résine échangeuse d'ions utilisée dans le traitement des hypercholestérolémies, agissant en séquestrant les acides biliaires et favorisant leur élimination.

Il a été démontré que l'addition de 0,5 % de cholestyramine à la nourriture d'un rat contenant 1 mg/kg d'OTA réduit la concentration sanguine dans de 50 % et augmente son élimination fécale.

Son efficacité s'explique par le fait que l'OTA possède un cycle entérohépatique qu'elle perturbe. Mais cette molécule possède un coût élevé.

- Intérêt des bicarbonates (2).

En modifiant le pH urinaire, ils favorisent le passage de l'OTA sous sa forme ionisée, non réabsorbable par le rein. Ils diminuent ainsi la fréquence des lésions histologiques du rein et la toxicité aiguë (DL 50) de 20 % chez le rat.

VII - 2 - 3 - Limitier les effets toxiques de l'OTA.

- Intérêt de la phénylalanine.

La partie phénylalanine de l'OTA inhibe de façon compétitive au moins deux enzymes, impliquées dans la synthèse protéique et le métabolisme de la tyrosine (voir chapitres IV-1 et IV-2) (52).

CREPPY affirme que donnée préventivement ou en administration simultanée avec l'OTA ou peu de temps après, la phénylalanine en prévient la toxicité, *in vivo* et *in vitro*, dans certaines conditions (19).

Elle prévient l'immunosuppression chez la souris, réduit partiellement la tératogénicité chez le rat (52).

Cependant, la supplémentation en phénylalanine tend à créer un déséquilibre alimentaire dans l'apport d'acides aminés qui, chez la volaille d'élevage, réduit le gain de poids (52).

Les conditions d'emploi de la phénylalanine dans l'intoxication par l'OTA restent donc à être déterminées et codifiées pour un meilleur résultat (19).

- Intérêt de l'acide ascorbique (52).

Une étude a montré qu'une supplémentation en acide ascorbique (300 mg/kg), chez la volaille, améliore partiellement les effets toxiques de l'OTA.

Ainsi, la production d'œufs, diminuée de 35 % par la toxine ne l'est plus que de 16 % en présence d'acide ascorbique.

Le mécanisme d'action de cette molécule est inconnu mais il est possible qu'elle affecte la production de peroxydes lipidiques par l'OTA.

- Intérêt de la catalase et de la superoxyde dismutase (5).

BAUDRIMONT affirme que ces enzymes préviennent en grande partie la néphrotoxicité induite par l'OTA (enzymurie, protéinurie, créatininémie) et favorisent l'élimination urinaire de la toxine.

Elles agiraient probablement en inhibant la peroxydation lipidique au niveau des membranes des tubules rénaux.

## **VIII - DOSAGE DES OCHRATOXINES.**

(8, 9, 22, 42, 70)

La fréquence des contaminations alimentaires par l'OTA et les risques qui en résultent pour la santé humaine et animale ont conduit à développer des méthodes sophistiquées afin d'en déceler la présence et d'en déterminer la concentration dans les denrées alimentaires.

L'analyse des denrées suspectes comprend plusieurs étapes :

- l'échantillonnage,
- l'extraction et la purification des mycotoxines,
- la confirmation de l'identité,
- le dosage final.

### **VIII - 1 - L'ECHANTILLONNAGE**

Il pose un problème important dans l'analyse des mycotoxines : la sélection d'un échantillon représentatif.

En effet, la distribution des mycotoxines dans un lot de denrées est très hétérogène.

L'échantillonnage est donc effectué de la façon suivante :

- on prélève un premier échantillon sur le lot, de 1 à 5 kg que l'on moud grossièrement puis plus finement afin d'obtenir un échantillon homogène.
- on prélève ensuite un sub-échantillon de 50 g qui servira à l'analyse.

### **VIII - 2 - EXTRACTION (8, 9, 22, 42, 70).**

Les solvants d'extraction communément utilisés sont des solvants organiques, seuls ou en mélange, parfois additionnés d'eau et/ou d'acides.

Le mélange de solvants le plus souvent utilisé est : chloroforme-eau (77).



Cependant, d'autres solvants peuvent être employés :

- acide phosphorique,
- acétonitrile,
- hexane (pour le dégraissage des échantillons),
- acétate d'éthyl,
- acétone.

### **VIII - 3 - PURIFICATION**

Elle permet d'éliminer les substances pouvant interférer lors de l'analyse. Elle se fait par (8, 71) :

- extraction liquide - liquide,
- chromatographie sur couche mince (CCM),
- chromatographie sur colonne (gel filtration, partition entre solvants).

Pour les nouvelles méthodes de dosage utilisées, la purification n'est pas primordiale et, dans la plupart des cas, n'est pas effectuée (42).

### **VIII - 4 - CONFIRMATION DE L'IDENTITE (9, 42, 77).**

- par CCM :

La technique générale est de soumettre les plaques de gel de silice à la lumière ultraviolette, à une longueur d'onde de 366 nm. L'OTA apparaît sous forme d'un spot vert fluorescent et l'OTB sous forme d'un spot bleu-vert.

La fluorescence de l'OTA vire au bleu après exposition aux vapeurs d'ammoniac ou pulvérisation d'une solution de bicarbonate de sodium.

- par leurs caractères physicochimiques,
- par spectrométrie de masse.

## VIII - 5 - DOSAGE FINAL

### VIII- 5 - 1 - Par CCM (8, 9, 22, 42, 70).

La chromatographie sur couche mince, sur gel de silice, est la technique la plus pratique pour la détection des mycotoxines telles que les ochratoxines. Mais elle nécessite des échantillons très purs.

La détermination finale de la concentration en toxine est réalisée par comparaison visuelle ou fluorodensitométrique avec des solutions standards d'ochratoxine.

### VIII- 5-2- Par chromatographie liquide haute performance : HPLC.

Cette technique s'est bien développée malgré son prix de revient supérieur.

Elle n'apporte pas de progrès fondamental par rapport à la CCM, si ce n'est pour la détermination quantitative de très faibles doses.

Elle se prête bien à l'automatisation des analyses.

La HPLC combinée à un détecteur de fluorescence permet la détermination des ochratoxines à une concentration de l'ordre du  $\mu\text{g}/\text{kg}$  d'aliments.

### VIII - 5 - 3 - Par des méthodes immunologiques (9, 42).

Elles représentent les méthodes les plus récemment développées dans l'analyse des mycotoxines.

Elles sont basées sur l'interaction de la mycotoxine à doser avec un anticorps spécifique (produit chez le lapin).

Les mycotoxines ayant un poids moléculaire faible, elles ne sont pas antigéniques et doivent par conséquent être conjuguées à une protéine de transport pour permettre la synthèse d'anticorps chez le lapin.

On été développés :

- le dosage par RIA : radioimmunoassay
- la méthode ELISA : enzyme -linked immunosorbent assay

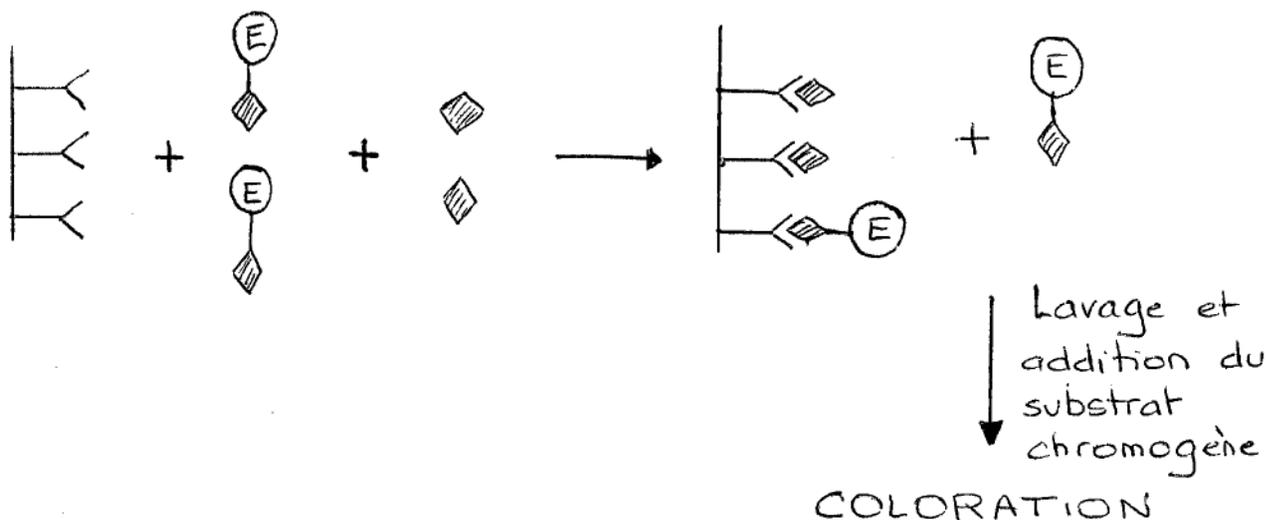
\* Le RIA : méthode radioimmunologique

Elle consiste à mettre en présence de l'anticorps correspondant, dans des proportions données, la prise d'essai contenant l'antigène, c'est-à-dire la mycotoxine à doser, et ce même antigène marqué par un isotope radioactif. Ce dernier sera d'autant moins fixé par l'anticorps que la prise d'essai est plus riche en mycotoxines naturelles. Le comptage des portions respectives de l'antigène radioactif fixé et resté libre, comparé avec des courbes témoins établies avec des solutions étalons donnera la quantité de mycotoxines contenue dans la prise d'essai.

\* La méthode ELISA

+ La méthode directe :

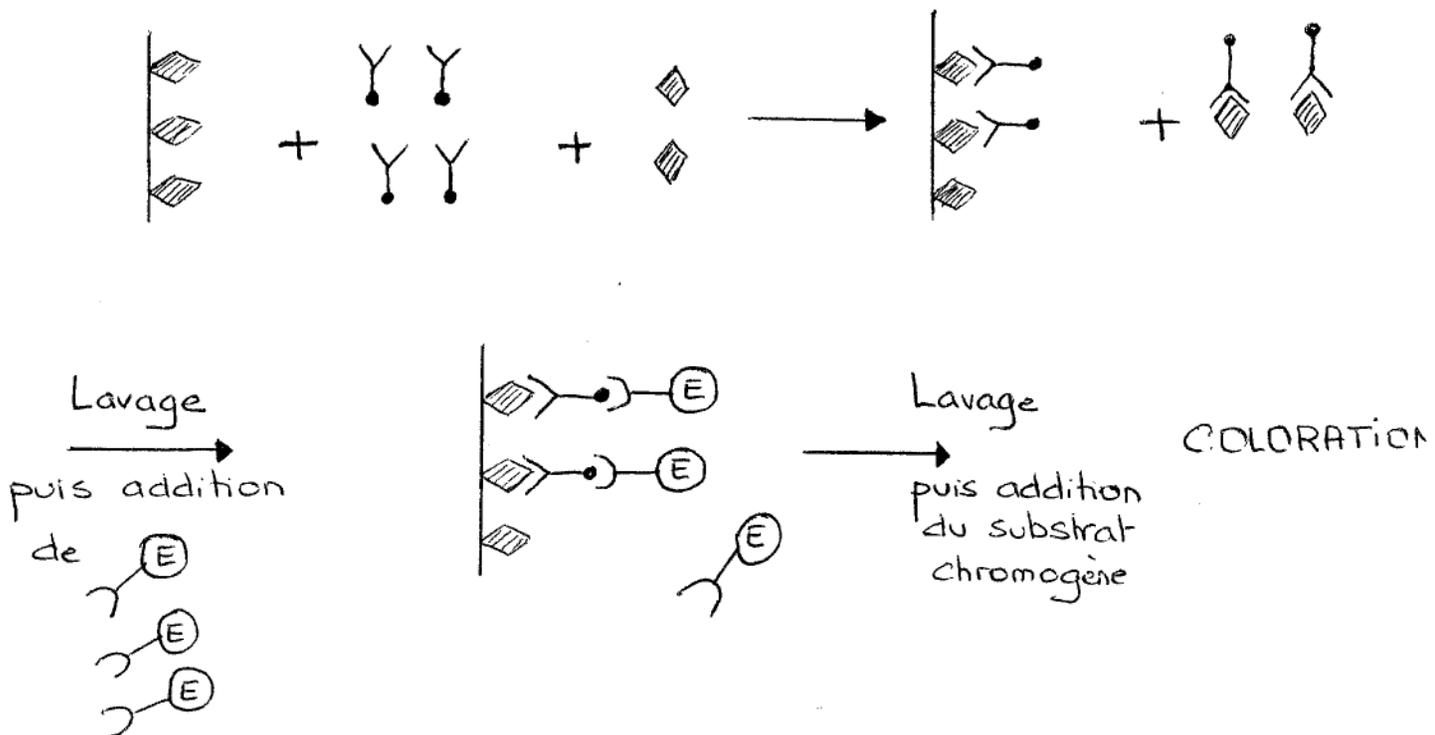
Elle utilise des anticorps fixés sur un support. L'échantillon à doser contenant l'antigène (les mycotoxines naturelles) est ajouté en même temps ou après un même antigène, conjugué à une enzyme. La toxine à doser et la toxine conjuguée à l'enzyme vont entrer en compétition pour la fixation sur les anticorps. Après lavage, on introduit dans le milieu le substrat chromogène de l'enzyme. Il en résulte l'apparition d'une coloration dont l'intensité est inversement proportionnelle à la quantité de mycotoxines contenue dans l'échantillon à doser. Cette quantité est déterminée grâce à une courbe étalon. (voir figure 13).



**Figure 13** - Schéma du principe de la méthode directe ELISA.

+ La méthode indirecte :

Utilise une mycotoxine fixée (l'antigène). On ajoute ensuite les anticorps de lapin et la prise d'essai contenant la toxine à doser. Il s'effectue une compétition entre la mycotoxine fixée et celle de la prise d'essai, pour l'anticorps de lapin. On introduit enfin dans le milieu un anticorps lié à une enzyme, dirigé contre l'anticorps de lapin. Après lavage, on ajoute le substrat chromogène (voir figure 14).



**Figure 14** - Schéma du principe de la méthode indirecte ELISA.

Ces méthodes immunologiques ont l'avantage d'être simples, spécifiques, sensibles et utilisables en routine.

Cependant, la précision dépend de la spécificité des anticorps et de la présence possible d'analogues structuraux de la mycotoxine à doser qui pourraient interférer dans le dosage.

VIII - 5 - 4 - Dosage utilisant la carboxypeptidase :  
application à l'étude d'échantillons biologiques (8).

Des techniques de détection de l'OTA dans les échantillons biologiques ont été développées du fait de son passage dans les reins et le sang humain et animal.

L'OTA est clivée en OT $\alpha$  et phénylalanine par la carboxypeptidase.

La détection de l'OTA est basée sur la différence des spectres de fluorescence, d'excitation de l'OTA (maximum à 380 nm) et ceux de l'OT $\alpha$  (maximum à 340 nm).

Cependant, cette méthode ne permet pas une discrimination de l'OTA et l'OTB (autre contaminant naturel) dont les spectres de fluorescence coïncident.

Cette méthode a été appliquée à la détermination de l'OTA dans l'orge.

Les méthodes analytiques décrites possèdent des limites de détection de 0,1-0,2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  pour les équipements les plus sensibles, 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  pour les autres.

Elles permettent de doser les ochratoxines dans des échantillons variés et facilitent donc les investigations épidémiologiques sur l'étendue du fléau.

## **IX - REGLEMENTATION (19, 76, 77)**

Depuis une dizaine d'années, le prise de conscience du risque sanitaire associé à la présence de mycotoxines dans les aliments se généralise. Comme il n'existe pas de législation internationale pour les taux d'OTA dans les aliments, certains pays ont décidé d'eux-mêmes d'appliquer des seuils tolérables au dessus desquels les aliments sont rejetés.

Cependant, divers facteurs influencent la mise en place de ces seuils :

- les études disponibles concernant la prévalence des ochratoxines dans les aliments, l'estimation de l'exposition.

- les données toxicologiques confirmant la toxicité des ochratoxines.

Ces mycotoxines étant cancérigènes, un seuil fixé à zéro serait approprié, mais les mycotoxines sont des contaminants naturels et ne peuvent être complètement éliminées sans évincer directement l'aliment contaminé.

- les méthodes d'analyse des denrées

Elles doivent être fiables, donnant des résultats précis.

Le seuil de tolérance ne peut, bien entendu, pas être inférieur à la limite de détection des méthodes de dosage actuellement utilisées.

- la distribution des ochratoxines dans les denrées

Etant très peu homogène à l'intérieur d'un lot, elle pose le problème d'effectuer un échantillonnage représentatif, afin de ne pas surévaluer ou sous-évaluer le taux de contamination d'un produit, ce qui pourrait mettre en péril l'intérêt du consommateur ou du producteur.

- les échanges commerciaux internationaux

Une réglementation trop stricte serait défavorable :

- \* aux pays importateurs de céréales en ce qui concerne leur approvisionnement.

- \* aux pays exportateurs qui présenteraient alors des difficultés à vendre leurs productions.

- Enfin, cette volonté d'établir une réglementation ne doit pas avoir pour conséquence une hausse des prix des denrées de base, particulièrement dans les pays en voie de développement où toute mesure drastique conduirait à une pénurie de certains produits et à une hausse des prix.

Malgré toutes ces difficultés, une réglementation a pu être établie dans divers pays. En 1990, au moins 12 pays ont mis en place une réglementation pour les ochratoxines (voir tableau 12).

Ainsi, les seuils de tolérance établis varient avec les pays et avec le type d'aliment.

Notons cependant qu'il est illusoire de fixer le seuil à zéro comme cela semble être le cas en Belgique, car il apparaît de plus en plus clairement qu'aucun pays n'est à l'abri de l'ochratoxicose (19).

Selon VAN EGMOND, ces seuils ne semblent pas avoir été définis scientifiquement : les connaissances scientifiques disponibles n'ont pas été pleinement utilisées (78).

Il conviendrait que la législation concernant l'OTA devienne internationale. A l'heure actuelle, le service de la répression des fraudes ainsi que certains laboratoires municipaux recherchent soit de façon routinière soit de façon ponctuelle la présence d'OTA dans les aliments (19).

Il apparaît que dans tous les pays où l'OTA a été recherchée, on en a trouvé. Cela doit nous inciter à rester vigilants.

PAYS	PRODUIT	TOLERANCE ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	REMARQUES	AUTORITES RESPONSABLES
BRESIL	riz, orge, fèves maïs.	50		—
TCHECOSLO- VAQUIE	• toute denrée • aliments destinées aux bébés • aliments destinées aux enfants	20 1 5		Ministère de la santé ( officiel )
DANEMARK	reins de porc  reins de porc  reins de porc	25  10  < 10	• toute la carcasse est détruite si >25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ • les reins le foie et autres viscè- res détruits si 10-25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ • reins détruits	Ministère de l'Agriculture (non officiel)
FRANCE	céréales	30	proposition	
HONGRIE	toute denrée	20		
ISRAEL	céréales destinées aux animaux	300		
PAYS-BAS	céréales	3	proposition	Ministère de la santé
ROUMANIE	toute denrée destinées à l'Homme et à l'animal	5		Ministère de la santé et Ministère de l'Agriculture
SUEDE	• aliments complets pour porcs • aliments complets pour volaille	100 1000		Ministère de l'Agriculture
GRANDE- BRETAGNE	céréales	10	directives industrielles	
BELGIQUE	toutes denrées	0		
GRECE	café	20		

**Tableau 12 - Taux maximum tolérés pour l'OTA dans les aliments. (77,78).**

## CONCLUSION

Présente à l'état de contaminant naturel dans un grand nombre d'aliments destinés à l'homme et aux animaux d'élevage, dans toutes les régions du monde où elle a été recherchée, l'OTA se retrouve dans le sang de l'homme et des animaux.

Le risque direct sur la santé des individus est représenté par ses propriétés néphrotoxiques et cancérigènes.

Actuellement, le champ d'investigation est encore vaste. Ainsi, il reste à définir avec plus de précision l'importance et la fréquence de la contamination des aliments de diverses origines destinés à la consommation humaine. Par ailleurs, l'implication de l'OTA dans la néphropathie endémique des Balkans et les tumeurs qui lui sont associée n'est, malgré tout, qu'une hypothèse qu'il reste à confirmer.

Bien que les conséquences économiques en terme de pertes dues aux effets sur la santé de l'homme ne peuvent encore être quantifiées, les pertes concernant l'agriculture et les élevages d'animaux sont importantes. Elles font suite à des récoltes de mauvaise qualité, à une baisse de productivité dans les élevages (par mortalité, infertilité, retard de croissance).

A l'heure actuelle, les effets biologiques des ochratoxines peuvent être atténués de diverses manières. Ces différentes méthodes sont compatibles avec la récolte, le stockage, la formulation et la consommation des aliments.

Enfin, il serait nécessaire d'inciter tous les pays dans le monde à fixer des niveaux admissibles de contamination à la lumière des travaux épidémiologiques actuellement en cours.

## BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ACHOUR A. , EL-MAY M., BACHA H., HAMAMMI M., MAAROUFI K., CREPPY.E.E. Néphropathies interstitielles chroniques - Approches cliniques et étiologiques : ochratoxine A - In : Human ochratoxicosis and its pathologies. INSERM, 1993, 231, 227 - 233.
- 2 - BACH H.P. . The modulation of mycotoxin exposure in domestic animals and man : can we affect what we can't control ? In : Human ochratoxicosis and its pathologies. INSERM, 1993, 231, 43 - 49.
- 3 - BACH H.P. . Markers for mycotoxin nephrotoxicity in domestic animals and man. Why are there no selective or specific ways of assessing the lesion ? In : Human ochratoxicosis and its pathologies. INSERM, 1993, 231, 217 - 225.
- 4 - BACHA H., MAAROUFI K., ACHOUR A., HAMAMMI M., ELLOUZ F., CREPPY E.E. . Ochratoxines et ochratoxicoses humaines en Tunisie. In : Human ochratoxicosis and its pathologies. INSERM, 1993, 231, 111 - 121.
- 5 - BAUDRIMONT I., BETBEDER A.M., GHARBI A., PFOLH - LESZKOWICZ A., DIRHEIMER G., CREPPY E.E. . Influence de la superoxyde dismutase associée à la catalase sur la néphrotoxicité induite par l'ochratoxine A chez le rat -In : Human ochratoxicosis and its pathologies - INSERM, 1993, 231, 189 - 198.
- 6 - BERTHIER J. et VALLA G. . Moisissures - Mycotoxines et aliments: du risque à la prévention. Cours présenté à l'université Claude Bernard, Lyon I, 1993, 1-19.(communication personnelle).
- 7 - BETINA V.. Mycotoxins : chemical, biological and environnemental aspect - Bioactive molecules. Elsevier, 1989, 9, 151 - 191.
- 8 - BETINA V. . Mycotoxins : production, isolation, séparation and purification . Elsevier, 1984, 196 - 206.
- 9 - BEUCHAT L.R... Food and beverage mycology. AVI., 1987, 571 -595.
- 10 - BORSA J., CHELACK W.S. , MARQUARDT R.R., FROHLICH A.A. . Comparaison of irradiation and chemical fumigation used in grain disinfestation on production of ochratoxin a by *Aspergillus alutaceus* in treated barley. J. Food Prot. 1992, 55, 990 - 944.

- 11 - BOURAIMA Y., AYI -FANOU L., KORA I., SETONDI J., SANNI A., CREPPY E.E . Mise en évidence de la contamination des céréales par les aflatoxines et l'ochratoxine A au Bénin. In : Human ochratoxicosis and its pathologies - INSERM, 1993, 231, 101 - 110.
- 12 - BREITHOLTZ - EMANUELSSON A., OLSEN M., OSKARSSON A., PALMINGER I., HULT K.. Ochratoxin A in cow's milk and in human milk with corresponding human blood samples. J. AOAC Int., 1993, 76, 842 - 846.
- 13 - BREITHOLTZ - EMANUELSSON A., FUCHS R., HULT K., APPELGREN L.E. . Distribution of <sup>14</sup>C - ochratoxin A and <sup>14</sup>C ochratoxin B in rats : a comparaison based on whole - body autoradiography. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 201 -203.
- 14 - BUCHMANN B.N., HALD B. . Analysis, occurrence and control of ochratoxin A residues in Danish pig kidneys. Food Addit. Contam. , 1985, 2 , 193 - 199.
- 15 - CASTEGNARO M, MARU V., PETKOVA - BOCHAROVA T.,NOKOLOV I., BARTSCH H. . Concentrations of ochratoxin A in the urine of endemic nephropathy patients and controls in Bulgaria : lack of detection of 4 - hydroxyochratoxin A. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115 , 165 -169.
- 16 - CEOVIC S., PLESTINA R., MILETIC - MEDVED M., STAVLJE --NIC A . , MITAR J., VUKELIC M. . Epidemiological aspects of Balkan endemic nephropathy in a typical focus in Yougaslavia. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 5 - 10.
- 17 - CREPPY E.E, BETBEDER A.M, GHARBI A., COUNORD J., CASTEGNARO M., BARTSCH H., MONCHARMONT P., FOUILLET B., CHAMBON P., DIRHEIMER G. . Human ochratoxicosis in France. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 145 - 151.
- 18 - CREPPY E.E, CASTEGNARO M., GROSSE Y., MERIAUX J., MANIER C., MONCHARMONT P., WALLER C. et coll. . Etude de l'ochratoxicose humaine dans trois régions de France : Alsace, Aquitaine, et région Rhône-Alpes. In : Human ochratoxicosis and its pathologies. INSERM, 1993, 231, 147 - 158.
- 19 - CREPPY E.E, DIRHEIMER G. . Toxicité de l'ochratoxine A, une mycotoxine contaminant les aliments de l'homme et de l'Animal. Cah. Nutr. Diét., 1991, 26, 342 -348.

- 20 - DEBERGHES P., DEFFIEUX G., GHARBI A. , BETBEDER A.M., BOISARD F., BLANC R., DELABY J.F. et CREPPY E.E. Détoxification de l'ochratoxine A par des moyens physiques, chimiques et enzymatiques. In : Human ochratoxicosis and its pathologies. INSERM, 1993, 231, 75 - 82.
- 21 - DERACHE R. . Toxicologie et sécurité des aliments. APRIA, 1986, 199 - 228.
- 22 - DEYMIE B.. Analyse des constituants alimentaires. In : techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro - alimentaires. APRIA, 1981, 4, 341 - 364.
- 23 - DI PAOLO N., GUARNIERI A., LOI F., SACCHI G., MANGIAROTTI A.M., DI PAOLO M. Acute renal failure from inhalation of mycotoxins. Néphron, 1993, 64, 621 - 625.
- 24 - DIRHEIMER G., CREPPY E.E.. Mechanism of action of ochratoxin A. In : mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 171- 186.
- 25 - FRANK H.K.. Food contamination by ochratoxin A in Germany.In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115 , 77 - 81.
- 26 - FRANK H.K.. Risk estimation for ochratoxin A in european countries. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 321 - 325.
- 27 - FROHLICH A.A, MARQUARDT R.R, OMINSKI K.H.Ochratoxin A as a contaminant in the human food chain : a canadian perspective. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours - IARC, Lyon, 1991, 115, 139 -143.
- 28 - FUCHS R. Distribution and fate of ochratoxin A in experimental animals - Thèse Vet., Uppsala, 1988.
- 29 - FUKUI Y., HAYASAKA S., ITOH M., TAKEUCHI Y. Development of neurons and synapses in ochratoxin A - induced microcephalic mice : a quantitative assessment of somatosensory cortex. Neurotoxicol . Teratol., 1992, 14, 191 -196.
- 30 - GALTIER P. . Pharmacokinetics of ochratoxin A in animals. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, lyon, 1991, 115, 187 - 200.
- 31 - GALTIER P., LARRIEU G., ALVINERIE M.. Influence de l'ochratoxine A sur le devenir des xénobiotiques. In : Human ochratoxicosis and its pathologies, INSERM, 1993, 231, 59 - 65.
- 32 - GOLINSKI P., GRABARKIEWICZ - SZCZESNA J., CHELKOWSKI J., HULT K., KOSTECKI M.. Possible sources of ochratoxin A in human blood in Poland. In : Mycotoxins,endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 153 - 158.

- 33 - HADIDANE R., BACHA H., CREPPY E.E., HAMMAMI M., ELLOUZE F., DIRHEIMER G. . Isolation and structure determination of natural analogues of the mycotoxin ochratoxin A produced by *Aspergillus ochraceus*. Toxicology, 1992, 76, 233 - 243.
- 34 - HALD B.. Porcine nephropathy in Europe. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 49 -56.
- 35 - HALD B. Ochratoxin A in blood in european countries. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 159 - 164.
- 36 - HARVEY R.B., ELISSALDE M.H., KUBENA L.F., WEAVER E.A, CORRIER D.E., CLEMENT B.A. . Immunotoxicity of ochratoxin A to growing gilts. Am. J. Vet. Res., 1992, 53, 1966 - 1970.
- 37 - HENNIG A., FINK - GREMMELS J., LEISTNER L.. Mutagenicity and effects of ochratoxin A on the frequency of sister chromatid exchange after metabolic activation. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 225 -260.
- 38 - HIETANEN E., BARTSCH H., BEREZIAT J.C., CASTEGNARO M., MICHELON J.. Characterization of the cytochrome P450 isoenzyme that metabolizes ochratoxin A, using metabolic inducers, inhibitors and antibodies. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 297 - 304.
- 39 - HOLMBERG T. . Ochratoxin A in cereal grain and its potential effects on animal health. Thèse Vét., 1992, Uppsala.
- 40 - HUFF W.E., KUBENA L.F., HARVEY R.B., PHILLIPS T.D. Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the individual and combined toxicity of aflatoxin and ochratoxin A. Poult. Sci., 1992, 71, 64 - 69.
- 41 - HUFF J.E. .Carcinogenicity of ochratoxin A in experimental animals. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 229 - 244.
- 42 - HUI Y.H.. Encyclopedia of food science and technology. J. WILEY,1991, 3, 1850 - 1869.
- 43 - IPCS (International Programme on Chemical Safety). Selected mycotoxins : ochratoxins ,trichothecens, ergot. Environmental Health Criteria 105. WHO, 1990, 13 - 68.
- 44 - KHALEF A., BENABADJI M., RAYAN T., HADDOUMI F.. Présence de l'ochratoxine A dans le sang humain et néphropathie en Algérie. In : Human ochratoxicosis and its pathologies. INSERM, 1993, 231, 235 - 238

- 45 - KHALEF A., ZIDANE C., CHAREF A., GHARBI A., TADJEROUNA M., BETBEDER A.M., CREPPY E.E.. Ochratoxicose humaine en Algérie. In : Human ochratoxicosis and its pathologies. INSERM 1993, 231, 123 - 127.
- 46 - KOSTECKI M., GOLINSKI P., UCHMAN W., GRABARKIEWICZ- SZCZESNA J.. Decomposition of ochratoxin A by heat and gamma irradiation. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 109 - 111.
- 47 - KUIPER - GOODMAN T., OMINSKI K., MARQUARDT R.R., MALCOLM S., Mc MULLEN E., LONBAERT G.A., MORTON T.. Estimating human exposure to ochratoxin A in Canada. In : Human ochratoxicosis and its pathologies. INSERM, 1993, 231, 167 - 174.
- 48 - KUIPER - GOODMAN T.. Risk assessment of ochratoxin A residues in food. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 307 - 320.
- 49 - LARRIEU G., GALTIER P.. Incidence of two oral mycotoxicosis on liver drug metabolizing activities in the rat. *Biochem. Pharmacol.* 1985, 34 , 425 - 426.
- 50 - MALAVEILLE C., BRUN G., BARTSCH H.. Genotoxicity of ochratoxin A and structurally related compounds in *Escherichia coli* strains : studies on their mode of action. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 261 - 266.
- 51 - MANOLOV G., MANOLOVA Y., CASTEGNARO M., CHERNOZEMSKY I.N. Chromosomal alterations in lymphocytes of patients with Balkan endemic nephropathy and of healthy individuals after incubation *in vitro* with ochratoxin A. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 267 - 272.
- 52 - MARQUARDT R.R., FROHLICH A.A.. A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. *J. Anim. Sci.*, 1992, 70, 3968 - 3988.
- 53 - MEISNER H., POLSINELLI L.. Changes of renal mRNA species abundance by ochratoxin A. *Biochem. Pharmacol.* 1986, 35, 661 - 665.
- 54 - MICCO C., AMBRUZZI M.A., MIRAGLIA M., BRERA C., ONORI R., BENELLI L.. Contamination of human milk with ochratoxin A. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumors. IARC, Lyon, 1991, 115, 105 - 108.
- 55 - MIRAGLIA M., BRERA C., CORNELI S., DE DOMINICIS R.. Ochratoxin A in Italy : status of knowledge and perspectives. In : Human ochratoxicosis and its pathologies. INSERM, 1993, 231, 129 - 139.

- 56 - MRAZ A., KOSUTZKY J.. Clinical effects and morphological changes after administration of low doses of ochratoxin A to broiler chicks. *Vet. Med. Praha.* , 1992, 37, 237 - 242.
- 57 - NIKOLOV I.G., CHERNOZEMSKY I.N., IDLE J.R. . Genetic predisposition to Balkan endemic nephropathy : ability to hydroxylate debrisoquine as a host risk factor. In : *Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours.* IARC, Lyon, 1991, 115, 289 - 296.
- 58 - OMS. Evaluation de certains additifs alimentaires et contaminants. 37<sup>ème</sup> rapport du comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires. Série des rapports techniques, 1991, 32-34
- 59 - PEPELJNIAK S., CEPELAK I., JURETIC D.. Effect of ochratoxin A on brush border enzymes of rat kidney. In : *Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours.* IARC, Lyon, 1991, 115, 273 - 277.
- 60 - PETKOVA - BOCHAROVA T., CASTEGNARO M.,MICHELON J., MARU V.. Ochratoxin A and other mycotoxins in cereals from an area of Balkan endemic nephropathy and urinary tract tumours in Bulgaria. In : *Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours.* IARC, Lyon, 1991, 115, 83 - 87.
- 61 - PETKOVA - BOCHAROVA T., CASTEGNARO M.. Ochratoxin A in human blood in relation to Balkan endemic nephropathy and urinary tract tumours in Bulgaria. In : *Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours.* IARC, Lyon, 1991, 115, 135 - 137.
- 62 - PFOLH - LESZKOWICZ A., GROSSE Y., KANE A., GHARBI A., BAUDRIMONT I., OBRECHT S., CREPPY E.E, DIRHEIMER G.. Is the oxydative pathway implicated in the genotoxicity of ochratoxin A ? . In : *Human ochratoxicosis and its pathologies.* INSERM, 1993, 231, 177 - 187.
- 63 - PFOLH - LESZKOWICZ A., CHAKOR K., CREPPY E.E, DIRHEIMER G..DNA adduct formation in mice treated with ochratoxin A. In : *Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours.* IARC, Lyon, 1991, 115, 245 - 253.
- 64 - PLESTINA S., STAVLJENIC A., CEOVIC S., FUCHS S.. Haematological features of the population of the area of Croatia, Yougoslavia, endemic for Balkan nephropathy. In : *Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours.* IARC, Lyon, 1991, 115, 43 - 46.
- 65 - POHLAND A.E..Mycotoxins in review. *Food Addit.Contam.*, 1993, 10, 17 - 28.

- 66 - RADOVANOVIC Z.. Epidemiological characteristics of Balkan endemic nephropathy in eastern regions of Yugoslavia. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 11 -20.
- 67 - RAHIMTULA A.D., CHONG X.. Alterations in calcium homeostasis as a possible cause of ochratoxin A nephrotoxicity - In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 207 - 214.
- 68 - ROTH A. ERIANI G., DIRHEIMAR G., GANGLOFF J. Kinetic properties of pure overproduced *Bacillus subtilis* phenylalanine - tRNA synthetase do not favour its *in vivo* inhibition by ochratoxin A. FEBS Letters, 1993, 326, 87 - 91.
- 69 - SINHA K.K.. Incidence of mycotoxins in maize grains in Bihar State, India. Food Addit. Contam., 1990, 7, 55 -61.
- 70 - SKRINJAR M., SRUBBLEFIELD R.D., VUJICIC I.F.. Ochratoxigenic moulds and ochratoxin A in forages and grain feeds. Acta. Vet. Hung., 1992, 40, 185 - 190.
- 71 - SMITH E., BERRY D.R., KRISTIANSEN B.. Fungal technology. In : The Filamentous Fungi, 1983, 4 , 238 - 262.
- 72 - SOSTARIC B., VUKELIC M.. Characteristics of urinary tract tumours in the area of Balkan endemic nephropathy in Croatia. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991 , 115, 29 - 35.
- 73 - SPEIJERS G.J.A., VAN EGMOND H.P. Worldwide ochratoxin A levels in food and feeds. In : human ochratoxicosis and its pathologies. INSERM, 1993, 231, 85 - 100.
- 74 - STEYN P.S.. Mycotoxins of human health concern. In : Human ochratoxicosis and its pathologies. INSERM, 1993, 231, 3 - 31.
- 75 - TANCHEV Y., DOROSSIEV D.. The first clinical description of Balkan endemic nephropathy (1956) and its validity 35 years later. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 21 - 28.
- 76 - TRIVEDI A.B., DOI E., KITABATAKE N.. Detoxification of ochratoxin A on heating under acidic and alkaline conditions. Biosci. Biotechnol . Biochem. 1992, 56, 741 - 745.
- 77 - VALLEE E. Aliments moisissés et santé publique. Etude d'une mycotoxine, l'ochratoxine A et son importance en alimentation humaine et animale. Thèse pharma., 1985, Nancy I.
- 78 - VAN EGMOND H.P.. Worldwide regulations for ochratoxin A. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 331 - 336.

- 79 - VAN EGMOND H.P . Current situation on regulations for mycotoxins. Overview of tolerances and status of standard methods of sampling and analysis. Food Addit. Contam., 1989, 6, 139 - 188.
- 80 - VELDMAN A, BORGGREVE G.J., MULDER E.J., VAN DE LAGEMAAT D.. Occurrence of the mycotoxins ochratoxin A, zearalenone and deoxynivalenol in feed components. Food Addit. Contam., 1992, 9, 647 - 655.
- 81 - VUKELIC M ., SOSTARIC B., FUCHS R.. Some pathomorphological features of Balkan endemic nephropathy in Croatia. In : Mycotoxins, endemic nephropathy and urinary tract tumours. IARC, Lyon, 1991, 115, 37 - 42.
- 82 - WOOD G.E. Mycotoxins in food and feeds in the United States. J. Anim. Sci., 1992, 70, 3941 - 3949.

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'approbre et méprisé de mes Confrères si j'y manque.

A U T O R I S A T I O N    D ' I M P R E S S I O N

---

S O U T E N A N C E

De la Thèse dont l'intitulé est :

les ochratoxines : détection, toxicité, prévention.

CANDIDAT : M<sup>lle</sup> NIEVRE - EL HAIDI Astrid

VU

GRENOBLE, le 28.06.94

Le Président du Jury

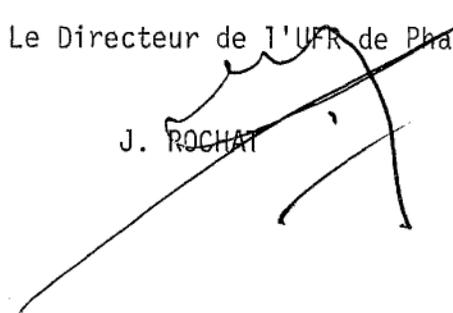
  
Pr. Renée GRILLOT  
U.F.R. Pharmacie

VU

GRENOBLE, le 28 juin 1994

P/ Le Président de l'Université  
Joseph FOURIER GRENOBLE I  
Sciences. Technologie. Médecine

Le Directeur de l'UFR de Pharmacie

  
J. ROCHAT

## LES OCHRATOXINES : DETECTION, TOXICITE , PREVENTION .

<u>Mots clefs :</u> Mycotoxines	Alimentation
Ochratoxines	Néphrotoxicité
Aspergillus	Pénicillium
Prévention	

Les ochratoxines constituent un groupe hétérogène de mycotoxines sécrétées, sous forme de métabolites secondaires, par plusieurs espèces de moisissures de répartition cosmopolite, appartenant aux genres *Aspergillus* et *Pénicillium*.

Ces moisissures se développent sur les végétaux (céréales, fruits secs...) au cours de leur conservation et excrètent les toxines qui s'accumulent dans ces denrées alimentaires.

Celles-ci, ingérées par les animaux d'élevage (volaille, porc) assurent la concentration des toxines dans la viande et les viscères. A leur tour, ces produits animaux sont source de contamination humaine.

L'ochratoxine A est la plus étudiée et la plus toxique.

Sa néphrotoxicité, responsable d'atteinte rénale porcine, est un fait vétérinaire reconnu, et elle serait à l'origine de la néphropathie endémique des Balkans ainsi que des tumeurs qui lui sont associées chez l'homme. Des expérimentations animales ont montré qu'elle possède également des propriétés immunosuppressive, tératogène, cancérigène.

Les conditions de stockage dans des lieux frais et à faible taux d'humidité diminuent la multiplication fongique et la sécrétion des ochratoxines. Malgré leur toxicité, aucune réglementation internationale n'a encore été établie.

