Chapitre 2 : Moisissures toxinogènes : les mycotoxines

Les mycotoxines : Le terme mycotoxine vient du grec **«mycos»** qui signifie champignon et du latin **«toxicum»** qui signifie poison. **Substances chimiques toxiques** issues du **métabolisme secondaire** de certaines espèces de moisissures qui se développent sur certaines denrées alimentaires. Ces moisissures appartiennent principalement aux genres suivants : ***Aspergillus, Penicellium*** et ***Fusarim*.** Naturellement présentes dans l'air ambiant, le sol et sur les cultures, les mycotoxines sont considérées comme faisant partie des contaminants alimentaires les plus significatifs en termes d'impact sur la santé publique, la sécurité alimentaire et l'économie de certains pays.

Plusieurs milliers de molécules toxiques ont été recensées chez les champignons dont seulement une vingtaine de familles posent des problèmes en nutrition humaine ou animale.
Les principales mycotoxines sont des molécules très oxygénées et peu azotées, possédant souvent une fonction ester ou lactone.
Elles sont synthétisées et excrétées par 5 types de moisissures : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps*, *Alternaria*.
Ces moisissures se développent sur les aliments bruts (céréales, oléoprotéagineux, fruits).

1. Principales mycotoxines :

Plus de 300 mycotoxines ont été identifiées:

- Aflatoxines: AFB1, AFM1, AFG1, AFB2, AFG2;
- Ochratoxine: OTA, OTB, OTC;
- Fumonisines: FB1, FB2, FB3, FB4;
- Zéaralénone;
- Trichothècènes;
- Patuline;
- Citrinine;
- Alcaloïdes de l'ergot de seigle.

Les mycotoxines ont principalement quatre origines biosynthétiques (selon leur voie de biosynthèse):

- les acides aminés : ergotamine, acide aspergillique, acide cyclopiazonique, etc.
- les polyacétates (polykétides) : aflatoxines, citrinine, ochratoxines, patuline, zéaralénone, fumonisine, etc.
- les terpènes : tricothécènes, désoxynivalénol, diacétoxyscirpénol, etc.
- et les acides gras.

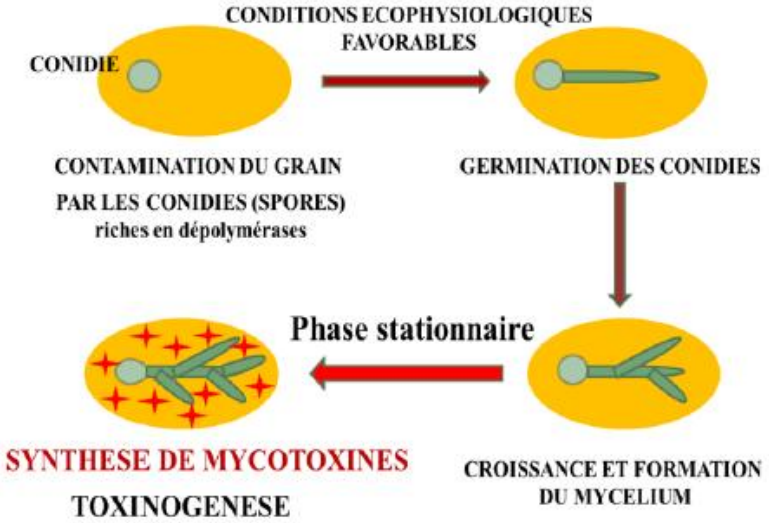
Exemples de mycotoxines produites par quelques moisissures

Mycotoxine	**Champignons**	**Substrat**
Aflatoxines	*Aspergillus flavus*	Arachide, épices, légumes secs
Ergotamine	*Claviceps purpurea*	Seigle
Patuline	*Aspergillus, Penicillium*	Pommes, cidre, poires
Ochratoxines A et B	*Aspergillus, Penicillium*	Maïs, blé, orge, fruits secs, café
Fumonisines	*Fusarium*	Céréales
Trichothécènes	*Fusarium*	Céréales

Il faut noter que :

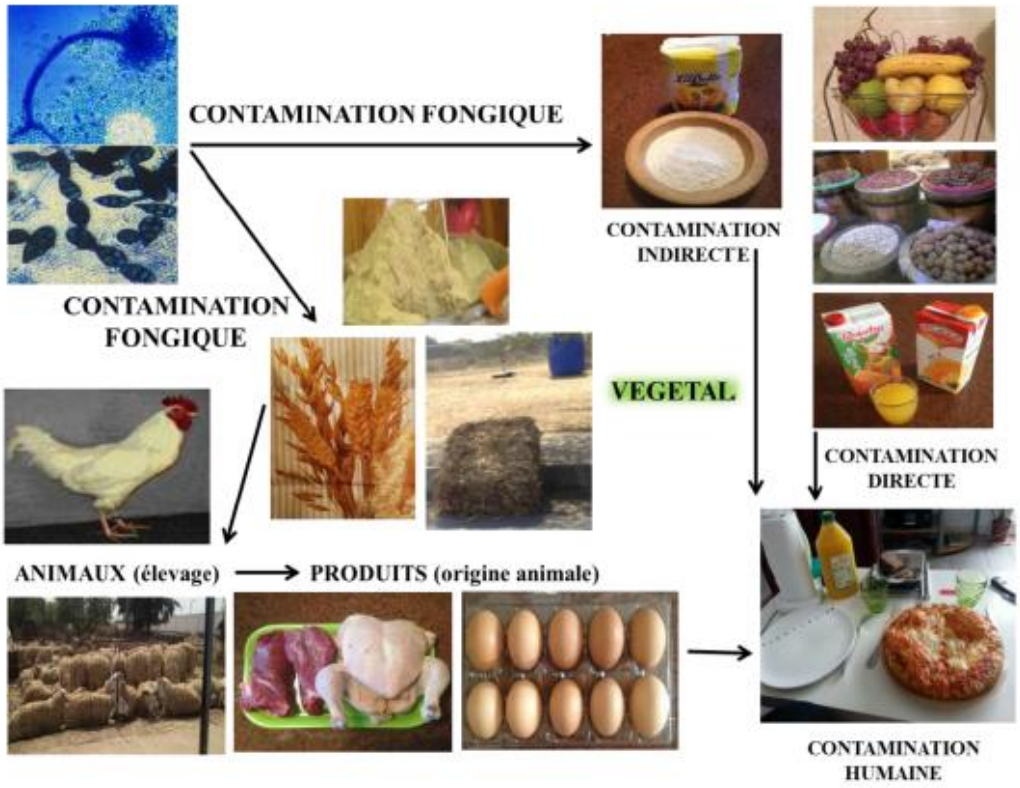
- La formation de mycotoxines est conditionnée au préalable par la croissance des champignons.

- La présence de moisissures sur les grains ne signifie pas nécessairement formation de mycotoxines.
- La synthèse des mycotoxines n'est pas seulement influencée par des paramètres environnementaux et nutritionnels mais surtout par la croissance d'un champignon bien particulier.



(Guezlane-Tbibel *et al.*, 2016)

Figure : Colonisation d'une denrée alimentaire par une mycotoxine



(Guezlane-Tbibel *et al.*, 2016)

Figure : Les mycotoxines tout au long de la chaîne, depuis le champ jusqu'à l'assiette du consommateur

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

- Existence de la mycotoxine dans l'alimentation;
- Exposition de l'homme à cette mycotoxine;
- Corrélation entre l'exposition et l'incidence de la maladie;
- Reproductibilité des symptômes caractéristiques chez les animaux;
- Mode d'action similaire chez l'homme et les animaux.

Formes aiguës de mycotoxicoses chez les animaux domestiques

Mycotoxicose	**Espèces fongiques**	**Mycotoxines**	**Espèces animales**	**Syndrome primaire**
Fusariose	*Fusarium moniliforme*	Fumonisine B1	Porc	Œdème pulmonaire
Vomitoxicose	*Fusarium sporotrichoides*	Désoxynivalénol	Porc	Entérite, vomissements
T2 toxicose	*Fusarium*	Toxine T2	Porc, veau, volailles	Nécrose dermique, gastroentérite
DAS toxicose	*Fusarium*	Diacétoxyscirpénol	Porc	Nécrose du tube digestif, hémorragies
Leuco encéphalomalacie	*Fusarium moniliforme*	Fumonisine B1	Cheveau	Incoordination des mouvements
Aflatoxicose	*Aspergillus* spp.	Aflatoxines	Volailles, veau, porc, chien	Hépatite, hémorragies, mort
Ergotisme	*Claviceps*	Acide lysergique	Veau, mouton, poulet	Gangrène, crise nerveuse, baisse de la reproduction
Eczéma facial	*Phitomyces Chartarum*	Sporidesmines	Mouton, veau	Photo sensibilisation, cholangiome
Ochratoxicose	*Aspergillus ochraceus* *Penicillium viridicatum*	Ochratoxine A	Porc, dindons, volailles	Néphropathie

Implication de mycotoxines dans des épidémies chez l'homme

Maladie (aiguë)	**Symptômes**	**Espèces fongiques**	**Mycotoxines**	**Substrats**	**Pays**
Ergotisme gangréneux	Vasoconstriction, gangrène	*Claviceps purpurea*, *C. fusiformis*	Alcaloïdes de l'ergot	Seigle, céréales	Ethiopie, Inde

Aleucie toxique alimentaire (ATA)	Brûlures digestives, nausées, vomissements	*Fusarium* spp.	Trichothécènes	Céréales, pain	Russie, Japon, Corée
Maladie de Kaschim-Beck	Arthrite osseuse	*Fusarium* spp.	Trichothécènes	Céréales	Chine
Béribéri cardiaque	Anomalie cardiaque, mort par dépression respiratoire	*Penicillium* spp.	Citréoviridine	Riz	Japon
Cancer de l'œsophage	Tumeurs	*Fusarium* spp.	Fumonisine, fusarine C	Céréales	Afrique du Sud
Cirrhose (enfant)	Nécrose du foie	*Aspergillus* spp.	Aflatoxine	Céréales	Inde
Hépato-carcinomes	Tumeur du foie	*Aspergillus* spp.	Aflatoxine	Céréales	Afrique, Inde
Néphropathie endémique	Nécroses des tubules et glomérules	*Penicillium verrucosum Aspergillus ochraceus*	Ochratoxine A	Céréales	Ex-Yougoslavie Bulgarie

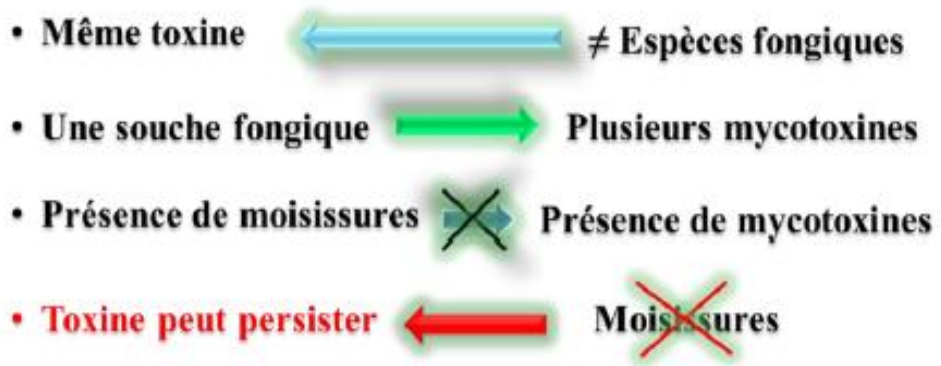
2. Facteurs influençant la toxinogénèse

2.1. Facteurs intrinsèques

Les mycotoxines sont essentiellement élaborées par des espèces appartenant aux genres *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium*. Certaines mycotoxines peuvent être produites par plusieurs espèces appartenant à des genres différents. Par exemple l'ochratoxine A (OTA) est produite par *Penicillium nordicum*, *P. verrucosum*, *Aspergillus ochraceus* et *A. carbonarius*.
De même, une espèce peut élaborer plusieurs mycotoxines. Par exemple l'acide penicillique et l'OTA sont produits par *A. ochraceus*.
Cependant certaines mycotoxines sont étroitement liées à certaines espèces fongiques : aflatoxines (*A. flavus* et *A. parasiticus*),
Le type et la quantité de mycotoxine dépendent des espèces qui les produisent. Elles différent selon leur caractère morphologique, génétique et leur milieu écologique.
Les champignons toxinogènes peuvent être classés en deux groupes principaux :

(i) les champignons de champs qui contaminent les produits agricoles avant et pendant la récolte, principalement *Fusarium* et *Alternaria* mais aussi des *Aspergillus* dans le cas des raisins.

(ii) les champignons de stockage (par exemple *Penicillium* et *Aspergillus*) qui tendent à contaminer les denrées alimentaires pendant le stockage.



(Guezlane-Tbibel *et al.*, *2*016)

Figure : Mycotoxinogénèse et moisissures

2.2. Facteurs extrinsèques :

2.2.1. Disponibilité en eau (AW)

La disponibilité en eau a une influence déterminante sur le développement du champignon ainsi que sur sa production de mycotoxines, notamment dans les denrées peu hydratées comme les céréales, les grains de cafés.
Dans ce cas, la toxinogénèse semble proportionnelle à l'activité de l'eau. La plupart des moisissures préfèrent une Aw entre 0,85 et 0,99 pour leur développement.
L'Aw minimale permettant le développement de la plupart des champignons contaminant les céréales est de 0,7.
Certaines moisissures xérophiles (*A. flavus* ou *P. restrictis*) peuvent se développer dans les fruits secs, le lait en poudre, les confitures, les charcuteries sèches dont l'Aw est moindre.
Généralement les espèces *d'Aspergillus* et de *Penicillium* sont des contaminants typiques des céréales au stockage tandis que les espèces de *Fusarium* préfèrent le milieu dont l'Aw est plus élevée.

2.2.2. Température

Les moisissures peuvent se développer entre 0 et 35 °C.
Certaines espèces sont capables de se développer à des températures extrêmes : *Cladosporium herbarum* peut se développer à des températures inférieures à 0 °C et *A. flavus* ou *A. fumigatus* jusqu'à 60 °C.
En général, la température optimale de toxinogénèse est voisine de la température optimale de croissance. Pour d'autres toxines, telles que la zéaralénone élaborée par *F. roseum*, la température optimale de toxinogénèse est généralement inférieure à celle de la croissance, respectivement 15 et 25°C environ.
Parfois l'apparition de mycotoxines dans les conditions naturelles est favorisée par des températures relativement basses, au voisinage de la température minimale de croissance : de l'ordre de 1 à 4°C pour les trichothécènes produites par *F. tricinctum*.

2.2.3. Composition gazeuse

La plupart des moisissures sont aérobies. La réduction de la pression partielle en oxygène et surtout l'accroissement de la teneur en CO_2 ont un effet dépresseur important sur la toxinogénèse.
La production d'aflatoxines dans l'arachide, modérément réduite entre 5 % et 21 et d'O_2, est pratiquement inhibée lorsque la proportion en O_2 est inférieure à 1%.
L'augmentation de la teneur en CO2 (20%), surtout si elle est associée à une réduction en oxygène, provoque une chute importante de la production d'aflatoxines.
Après conservation dans une atmosphère confinée, dans laquelle les moisissures peuvent plus ou moins se développer, la remise à l'air libre ou la ventilation provoque rapidement une intense toxinogénèse.

2.2.4. Nature du substrat du milieu

La composition qualitative et quantitative du substrat peut influencer l'expression du pouvoir de sécrétion des toxines. En effet un taux élevé de sucres et/ ou de lipides est favorable à la toxinogénèse.
En effet, les céréales et les oléagineux, plus riches en sucres et en lipides sont généralement plus favorables à la production de mycotoxines que les substrats à forte teneur en protéines. La production des aflatoxines par *Aspergillus flavus* est favorisée par certains sucres comme le glucose, le mannose, le fructose et le saccharose.
Le fer, le zinc et le cuivre ont été testés sur la production d'aflatoxines et d'ochratoxines. Ils favorisent tous la production de ces deux toxines à des concentrations inférieures à 10 mg/L de milieu mais le zinc est celui qui a le plus d'effet sur la croissance et la production d'aflatoxines.
Par exemple, *P. verrucosum* est le producteur principal d'OTA dans les céréales tandis que *P. nordicum* contamine souvent les produits riches en protéines, des produits fermentés à base de viande, de fromages.
Ainsi, les céréales, sont beaucoup plus propices à la toxinogénèse que le soja, le colza et les protéines d'origines animales (saucisson, jambon).

2.2.5. pH des aliments

Concernant le pH, les champignons sont encore beaucoup plus tolérants que les bactéries alors que ces dernières exigent souvent des pH compris entre 7 et 8.
La plupart des champignons se développent normalement à des pH compris entre 3 et 8, leur croissance optimale étant généralement obtenue pour des pH compris entre 5 et 6. En raison de leur acidité (pH < 6) de nombreux aliments tels que les légumes, les fruits et la viande sont beaucoup plus exposés à une altération fongique que bactérienne.

2.3. Facteurs biologiques :

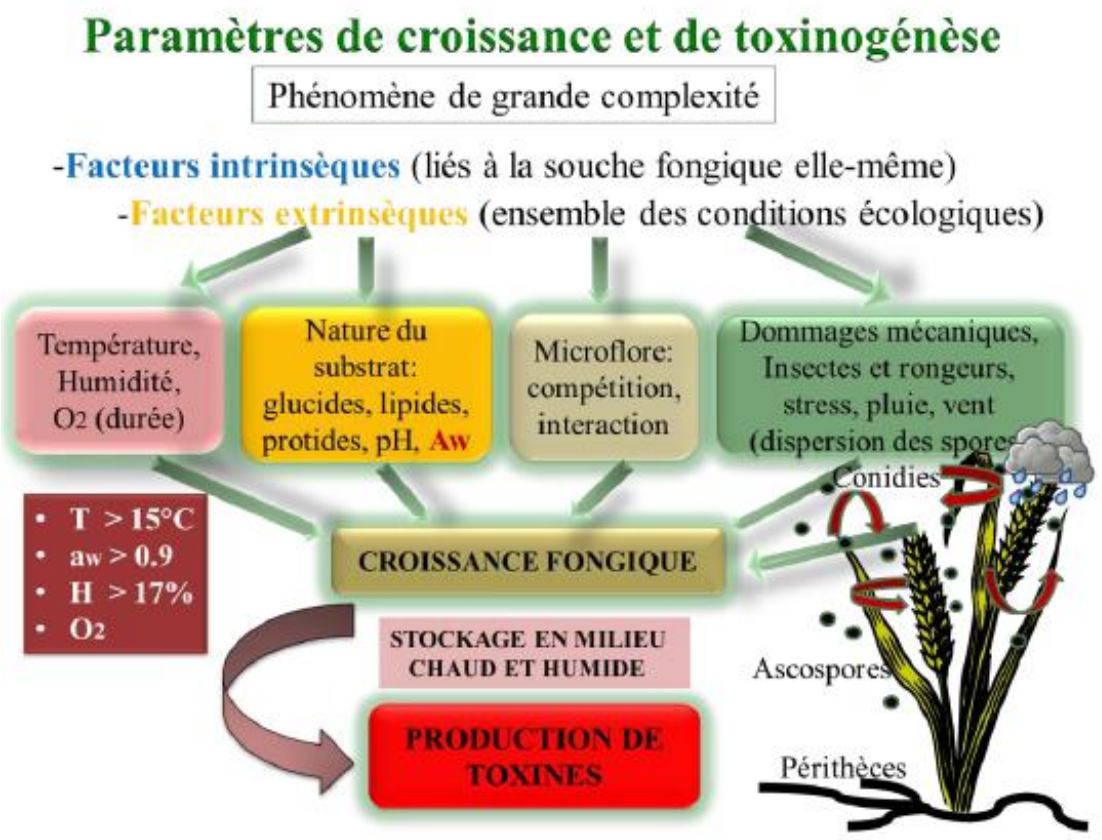
2.3.1. Les prédateurs

Les insectes et les acariens interviennent indirectement dans la production de mycotoxines en étant des vecteurs de spores de moisissures; ils les font pénétrer dans les zones internes des graines par les blessures qu'ils occasionnent.
Ainsi, la contamination de l'arachide, de coton et de maïs par *A. flavus* et/ou les aflatoxines avant la récolte est souvent liée à l'attaque par les insectes.

Au cours de la conservation, des grains hébergeant des charançons révèlent une population fongique importante et parfois des mycotoxines.
Les oiseaux et les rongeurs agissent de manière similaire sur des réserves de céréales non protégées.

2.3.2. Interactions entre micro-organismes

La présence simultanée de micro-organismes (bactéries et champignons) module la production de mycotoxines; il y a compétition entre différents champignons.
La production d'aflatoxines par *A. flavus* est inhibée lorsque *A. niger* est présent dans le même milieu.
La présence de plusieurs espèces fongiques sur la même denrée a généralement un effet inhibiteur sur la production de toxines. Cela s'explique d'une part, par la compétition pour le substrat et d'autre part, par le fait que certaines souches peuvent dégrader la toxine produite.



(Guezlane-Tbibel *et al.*, 2016)

Figure : Les paramètres responsable à la mycotoxinogénèse

3. Les principaux mycotoxines

3.1. Les Fumonisines

Les fumonisines sont des mycotoxines synthétisées par *Fusarium moniliforme*, parasite du maïs de répartition mondiale.

L'infestation pouvant être asymptomatique et ces mycotoxines étant thermostables, on les retrouve dans le maïs et de nombreux produits dérivés destinés à la consommation humaine ou animale.
Parmi les sept principales fumonisines identifiées, la Fumonisine Bl est la plus abondante chez les animaux de rente, elle provoque des affections variées, deux formes d'évolution fatale étant plus particulièrement caractérisées : l'oedème pulmonaire porcin et la leucoencéphalomalacie équine.
Chez le rat, elle est hépatocarcinogène.
Chez l'homme, la présence des fumonisine dans l'aliment pourrait favoriser la survenue de cancers de l'œsophage et la formation de plaques d'athérosclérose.

3.2. Les Ochratoxines

Les ochratoxines sont néphrotoxiques. Elles sont produites par *Aspergillus ochraceus* et *Pénicillium viridicatum*.
L'ochatoxine A est la plus toxique des ochratoxines. Les taux les plus élevés sont trouvés dans les céréales : maïs, orge, blé.
Des veaux âgés de 30 jours qui reçoivent 0,1 à 0,5 mg/kg de poids vif/j d'ochratoxine A pendant 4 semaines montrent une polyurie, une dépression, une perte de croissance et une déshydratation.
L'autopsie montre des reins de couleur grise et des lésions d'entérite. L'ochratoxine A est surtout un danger pour les veaux préruminaux.
Pour l'ochratoxine A, il existe un seuil réglementaire en alimentation humaine (de 0,5 à 10 ppb).
Pour l'alimentation animale, les recommandations sont de ne pas dépasser 0,25 ppm pour les céréales et les produits dérivés chez les bovins.
Pour l'ochratoxine A, il existe un seuil réglementaire en alimentation humaine (de 0,5 à 10 ppb).
Pour l'alimentation animale, les recommandations sont de ne pas dépasser 0,25 ppm pour les céréales et les produits dérivés chez les bovins.

3.3. Les Trichotécènes

Les trichothécènes, sont produits par *Fusarium* spp. Il s'agit d'un vaste groupe de composés chimiques contenant de nombreuses molécules.
Certains peuvent provoquer une irritation des muqueuses, en particulier des muqueuses digestives (intestinale, etc.).
Les toxines T-2 sont les plus toxiques dans ce groupe. Elles provoquent, en plus des inflammations des muqueuses digestives, une immunodépression et sont toxiques pour les reins, le foie et les intestins (gastroentérite).
Elles peuvent entraîner de la mortalité. Seul le DON (déoxynivalenol) fait l'objet d'un seuil réglementaire en alimentation humaine (de 200 à 1750 ppb) et de recommandations en alimentation animale (0,9 à 12 parties par million [ppm], 2 ppm pour les aliments pour veaux, agneaux et chevreaux.

3.4. Les ergot-alkaloïdes

Les ergot-alkaloïdes, (ergotamines, etc.) sont des mycotoxines produites par des moisissures du genre *Claviceps (C. purpurea,*
C. fusiformis et *C. paspali*) et *Neotyphodium (N lolii, N. coenophialum*).

À la différence des *Claviceps*, les *Neotyphodium* sont des champignons endophytes qui se développent à l'intérieur des tissus de la plante et ne provoquent donc pas de lésions visibles sur la plante.
Les *Claviceps* produisent des formes de résistance. Les sclérotes, petits corps noirs ayant approximativement la taille d'un grain de la céréale contaminée.
Les principales circonstances d'intoxication des bovins par des ergot-alcaloïdes sont la consommation, soit de restes de graminées (poacées) utilisées pour la production de semences fourragères ou des semences à gazon (fétuque élevée) qui contiennent des endophytes, soit en consommant des céréales auto-produites (non triées) contaminées par de l'ergot de seigle (*C. purpurea*).
La réglementation a prévu un seuil maximal de 1000 ppm pour l'ergot de seigle (*C. purpurea*) pour les matières premières et les aliments destinés aux animaux.

4. Historique

***Moyen âge : « Feu de Saint Antoine »**

- ✓ Consommation de pain dont la farine fut contaminée par un ascomycète (*Claviceps purpurea :* sécrétant l'ergotamine).
- ✓ Toxicose: l'ergotisme (Hallucination, gangrènes au niveau des extrémités, puis la mort).
- ✓

***1960 Londres :** épidémie **« maladie X des dindons»**

- ✓ Ingestion de tourteaux d'arachides (Brésil) contaminés par *Aspergillus flavus* sécrétant l'aflatoxine.
- ✓ Toxicose : Aflatoxicose; mort par nécrose hépatique et hyperplasies biliaires : Mort de 100000 dindons.
- ✓

***Makueni, Kenya avril 2004**
317 cas de contamination du Maïs par aflatoxines ➔ 125 décès.
55% des échantillons de maïs examinés avaient une teneur en aflatoxines supérieure aux limites admises.
Association entre importance de contamination du maïs et gravité des cas d'intoxication aux aflatoxines.

Origine de la contamination :

Maïs moissonné en février pendant des épisodes de pluies précoces hors saison,
Maïs resté humide conservé dans des conditions propices aux moisissures.

***Gujarat & Rajasthan, Octobre 1974**
- 397 personnes atteintes de jaunisse.
- 106 morts par hémorragie gastro-intestinale massive.

Aflatoxines ➔ Intoxication aiguë : hépatotoxicité, Intoxication chronique : cancérigène.

***Kashmir, Srinagar, 1987**
- Épidémie de troubles gastro-intestinaux.
- Blé de qualité inférieure, contaminé par *Fusarium* et *Aspergillus flavus*.
- Blé récolté pendant les pluies hors saison, resté humide, conditions propices aux moisissures
- Intoxication par trichothécènes.

***Patuline dans le jus de pommes en Belgique**
- La patuline est rapidement dégradée dans le tube digestif.

- Concentrations de patuline varie entre 10 et 43 µg/l dans les échantillons contaminés des jus à apparence trouble.
- Un enfant de 18 kg qui boit 200 ml de jus de pommes contaminé reçoit entre 10 et 20% de la limite maximale tolérable quotidienne de patuline (en moyenne).
- Si cet enfant boit le jus le plus contaminé, il recevra 340 % de cette limite maximale quotidienne.

5. Réglementation

Depuis plusieurs années la prise de conscience du risque sanitaire associé à la présence de mycotoxines dans les aliments se généralise. De plus en plus les mycotoxines sont systématiquement recherchées et font l'objet d'une norme.
La législation est généralement mise en place pour l'aflatoxine B1 considérée comme la plus dangereuse des mycotoxines.
Habituellement, la règlementation fixe pour les principales mycotoxines, les concentrations maximales admises en alimentation humaine et animales. En général, les maxima admissibles sont très différents d'un pays à l'autre. En alimentation humaine les teneurs admissibles d'aflatoxine B1 sont généralement de 2 µg/kg (2 ppb). La Suisse et l'Autriche ont les tolérances des plus faibles, 1 µg/kg, alors que la République de Chine a les tolérances les plus fortes avec 50 µg/kg.

6. Prévention contre les mycotoxines

6.1. Avant la récolte

- Assurer, à la récolte sur pied, de bonnes conditions écologiques (irrigation suffisante, apport de minéraux…) et éviter les conditions écologiques favorables à l'infection fongique;
- Éviter les résidus de plants intoxiqués afin d'empêcher le risque de contamination à la récolte suivante ou aux autres plantes;
- Utiliser des traitements chimiques pour prévenir l'apparition de moisissures;
- Un choix de variétés de semences, une bonne rotation des cultures et irrigation, etc.

6.2. Au moment de la récolte

- Une manipulation convenable de façon à éviter d'abimer les denrées;
- Un nettoyage avant l'entreposage.

6.3. Après la récolte

- Nettoyer fréquemment les systèmes de distribution des aliments pour animaux et les lieux de stockage;
- Maintenir des stocks dans des conditions de température et d'humidité appropriées;
- Utiliser des traitements chimiques antifongiques (ex : acides propionique et acétique),
- L'irradiation : des études récentes ont prouvé que la technologie des rayonnements s'avère efficace, pour l'élimination des mycotoxines éventuellement présentes dans les denrées alimentaires;
- Les conditions lors de la transformation et de la vente des denrées ont aussi leur importance. Il a été recommandé par exemple d'utiliser des méthodes manuelles, mécaniques, ou électroniques, pour éliminer les arachides abimées des chaines de transformation.

Conclusion

L'analyse des mycotoxines est impérative étant donné la toxicité de ces contaminants naturels; la prévention se fait à partir du champ jusqu'à l'assiette du consommateur par des contrôles réguliers, permettant ainsi la protection du consommateur.