

Mycotoxines



A. Objectifs pédagogiques

- 1-Citer les différents groupes de mycotoxines
 - 2-Décrire les structures et les propriétés physicochimiques des aflatoxines
 - 3-Décrire la toxicologie de l'aflatoxine B1
 - 4-Expliquer le métabolisme et le mécanisme d'action toxique de l'aflatoxine B
 - 5-Citer les sources de production des aflatoxines
 - 6- Citer les symptômes d'intoxication
 - 7- Décrire les méthodes d'analyse
 - 8- Déterminer les mesures de prévention
-



1- Définition:

- ▶ Le terme mycotoxine vient du grec «**mycos**» qui signifie champignon et du latin «**toxicum**» qui signifie **poison**.

Métabolites secondaires produites par des champignons filamenteux (*Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*)

- Retrouvées à l'état de contaminants naturels de nombreuses denrées d'origine végétale
-



1- Définition:

- Facteurs biotiques et abiotiques liées à leur production (souche, environnement, plante hôte, conditions de stockage des aliments...)
- Environ 25% des cultures vivrières de la planète sont attaquées par des moisissures productrices de mycotoxines (FAO, 2008)
- Pertes totales estimées de denrées alimentaires dues aux mycotoxines sont estimées à près de 1 000 millions de tonnes par an (FAO, 2008).



1- Définition:

Toxine produite par un champignon

- Plus de 1000 mycotoxines décrites, une trentaine avec des effets préoccupants
 - Structure chimique très diversifiée
 - Structure chimique et propriétés toxiques conservées au cours du stockage et de la transformation/cuisson des aliments
-



1- Définition:

Produits du métabolisme secondaire de moisissures

Peuvent se développer au champ ou en cours de stockage

Douées de potentialités toxiques à l'égard de l'homme et des animaux

300 composés identifiés

Seuls une trentaine possèdent de réelles propriétés préoccupantes

Stabilité importante et présence dans produits transformés (denrées alimentaires)

Exposition non alimentaire dans milieu de vie et de travail (poussières de paille, par exemple)



2- 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 Mort)



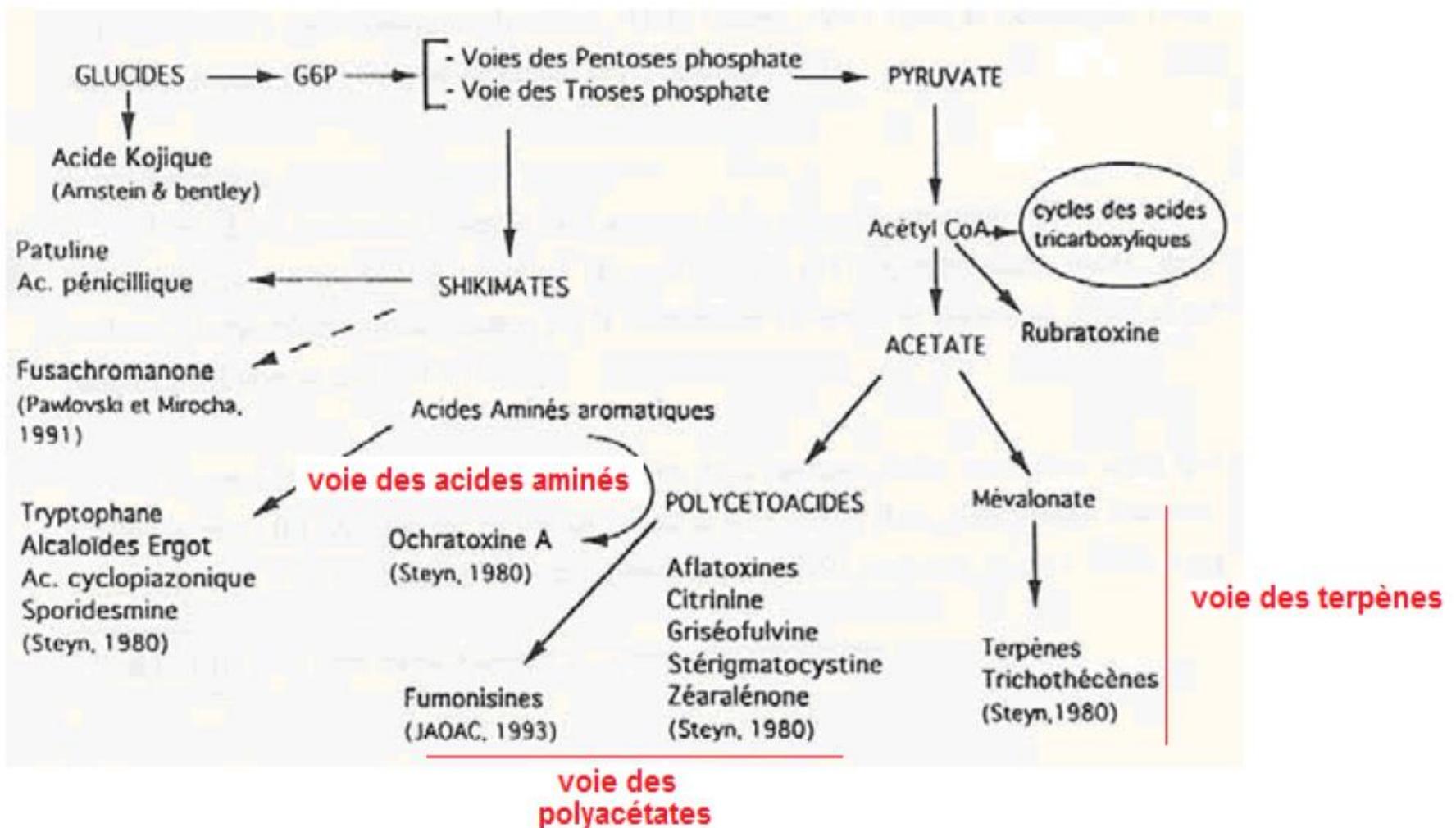
2- Historique:

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



3- Principales mycotoxines



4-Toxinogénèse:

- ▶ 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.....)

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

4-Toxinogénèse:

Toxinogénèse: Phénomène d'une grande complexité qui dépend d'une combinaison de plusieurs facteurs : T°, humidité et oxygénation, pH, CO₂, interactions microbiennes, insectes et du substrat lui-même .



Condition de formation des mycotoxines:

-conditions de température (variables selon les moisissures)

-disponibilité de l'eau

-les moisissures sont moins exigeantes quant à la disponibilité de l'eau que les bactéries

-dans les aliments à forte teneur en eau, la concurrence des bactéries inhibe la croissance des moisissures



Activité de l'eau: facteur A_w :

- mesure de la disponibilité de l'eau
- mesure de l'eau libre dans l'aliment
- n'est pas égale au % d'eau dans l'aliment

$$A_w = P/P_0$$

P = pression de la vapeur d'eau à la surface de l'aliment (=pression à laquelle l'eau serait en ébullition)

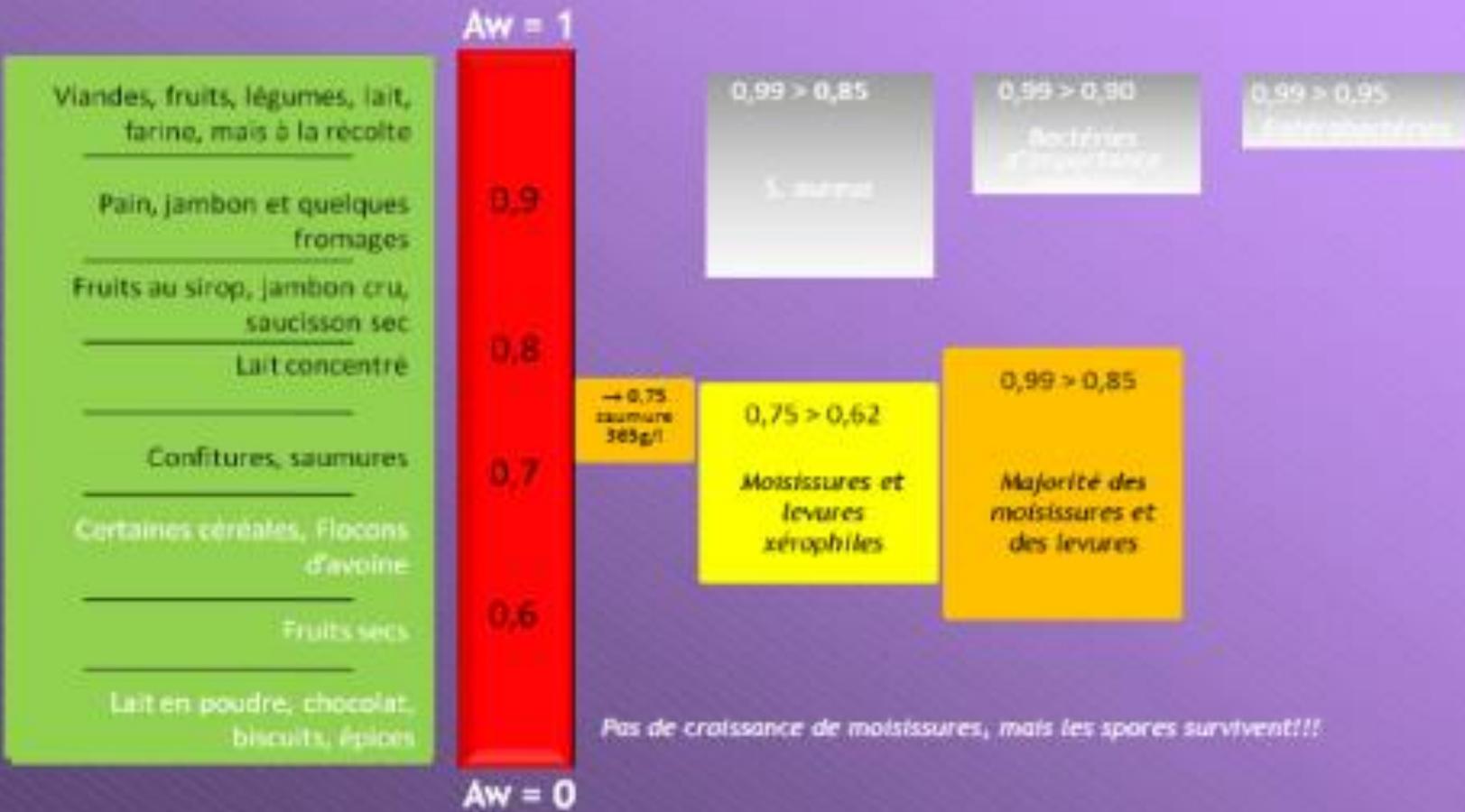
P_0 = pression de vapeur d'eau pure

Pour l'eau pure $A_w = 1$



Activité de l'eau, aliments et microorganismes

$A_w = HR/100$



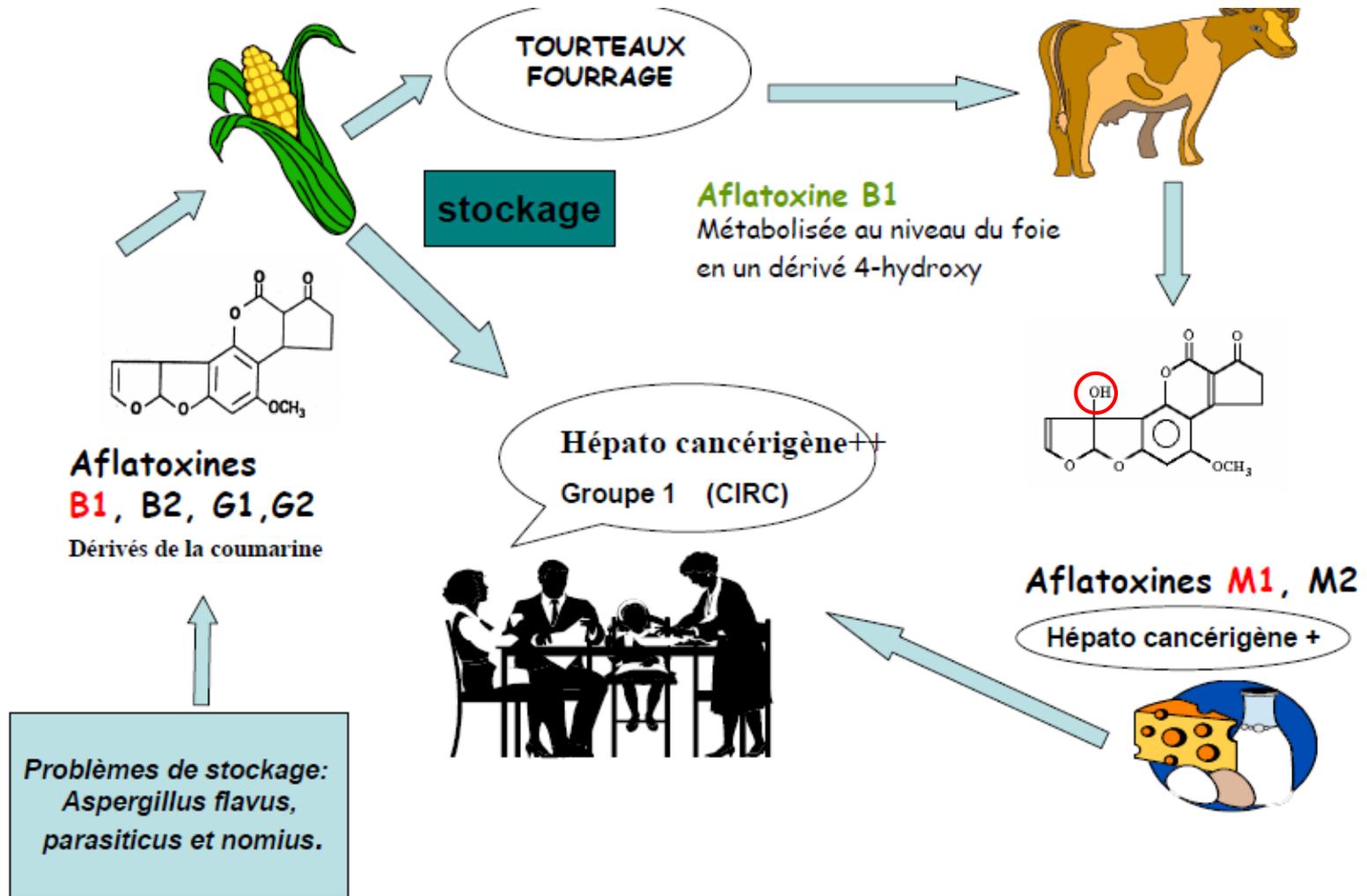
Pas de croissance de moisissures, mais les spores survivent!!!

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.
-



5- Contamination de la chaîne alimentaire



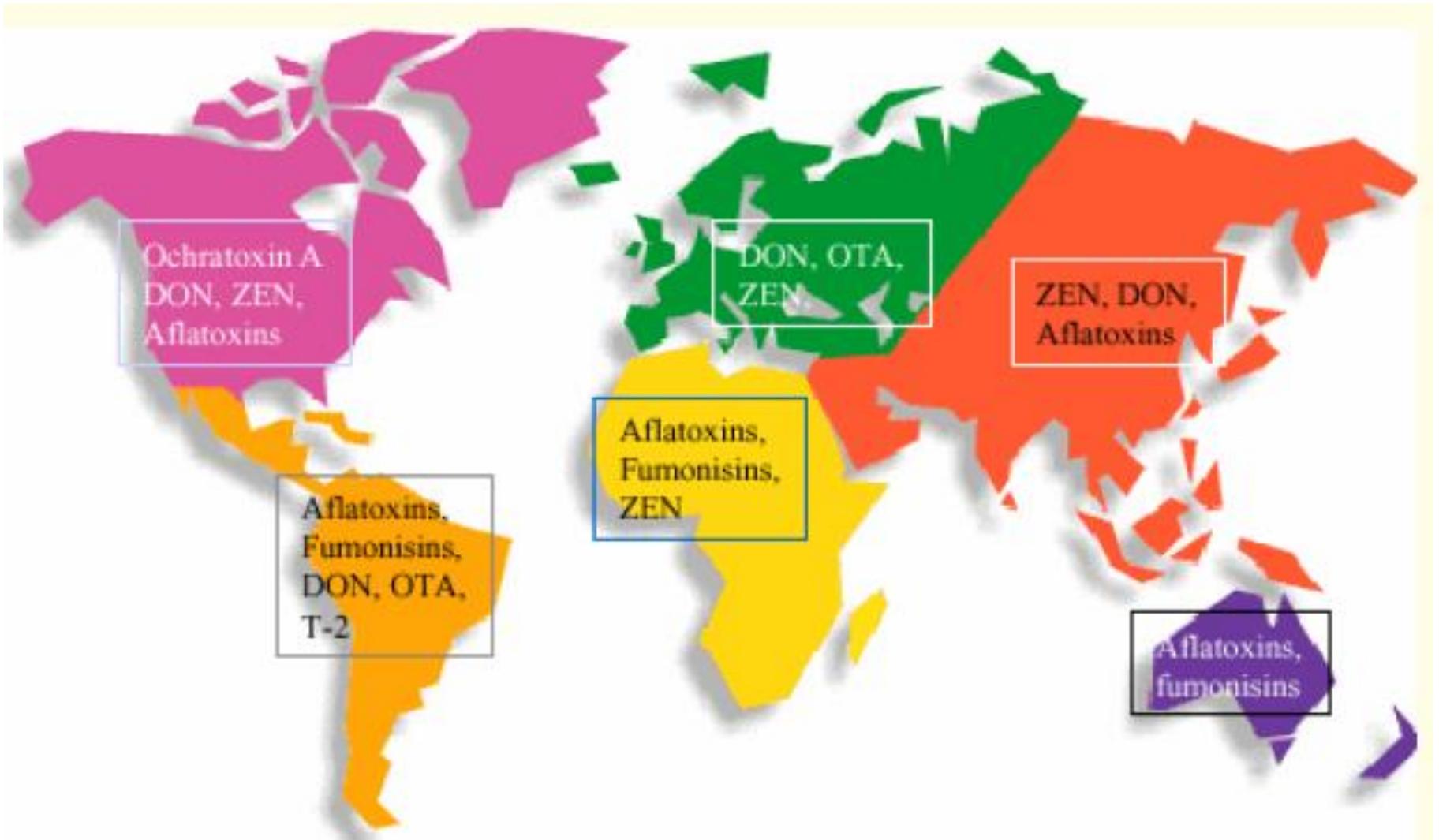
6- Mycotoxicose

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.
-



7- Répartition géographique



8- Mécanisme d'action toxique:

Toxine	Effets	Mécanismes d'action cellulaires et moléculaires
Aflatoxine B1 + M1	Hépatotoxicité Génotoxicité Cancérogénicité Immunomodulation	Formation d'adduit à l'ADN Peroxydation lipidique Bioactivation par des cytochromes P450 Conjugaison aux Glutathion-transférases
Ochratoxine A	Néphrotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Impact sur la synthèse des protéines. Inhibition de la production d'ATP Détoxification par les peptidases
Patuline	Neurotoxicité Mutagenèse <i>in vitro</i>	Inhibition indirecte d'enzymes
Trichothécènes (groupes A et B)	Hématotoxicité Immunomodulation Toxicité cutanée	Induction de l'apoptose sur progéniteur hématopoïétique et cellules immunitaires Impact sur la synthèse des protéines Altération des immunoglobulines
Zéaralénone	Fertilité et Reproduction	Liaison aux récepteurs œstrogéniques Bioactivation par des déshydrogénases Conjugaison aux glucuronyltransférases
Fumonisine B1	Lésion du système nerveux central Hépatotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Inhibition de la synthèse de céramide Altération du rapport sphinganine/sphingosine Altération du cycle cellulaire

Aflatoxines

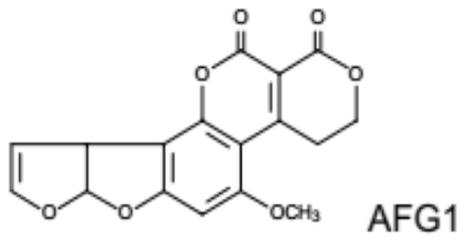
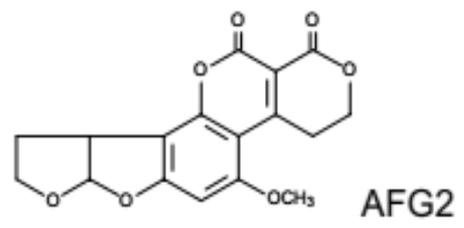
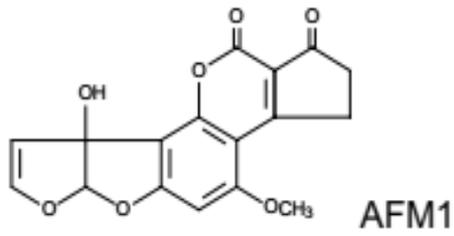
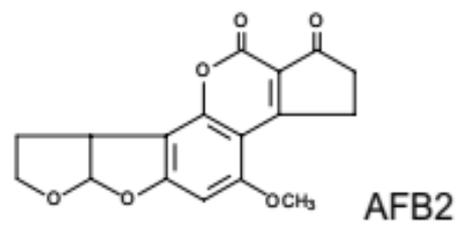
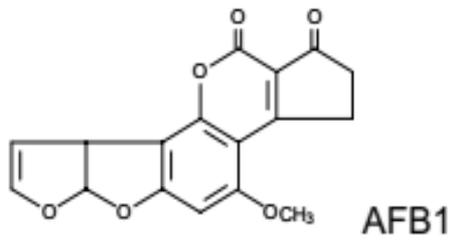


L'investigation menée lors de la « **maladie X du dindon** », qui a sévi en 1960 en Angleterre, a permis de mettre en évidence la **présence d'une toxine** dans la nourriture de ces volailles, à base de **tourteaux d'arachide** contaminés par une moisissure du genre *Aspergillus*

Découverte des **aflatoxines**.



-
- ▶ 3 principales souches d'Aspergillus: *A.flavus*, *A.parasiticus*, *A.nomius*.
 - ▶ Conditions chaudes et humides.
 - ▶ Dérivés de la Difuranocoumarine
 - ▶ Contaminant: Arachides, pistache, amandes, grains de coton, certaines céréales (maïs, blé, sorgho), épices, fruits secs, oléagineux.
 - ▶ Rencontrés sur les cultures dans les champs avant la récolte (+++)
-
- ▶



Structures des principales aflatoxines



AFB₁ : formule brute : $C_{17}H_{12}O_6$
Masse molaire : 312,3 g/mol

AFB₂ : formule brute : $C_{17}H_{14}O_6$
Masse molaire : 314,3 g/mol

AFG₁ : formule brute : $C_{17}H_{12}O_7$
Masse molaire : 328,3 g/mol

AFG₂ : formule brute : $C_{17}H_{14}O_7$
Masse molaire : 330,3 g/mol

AFM₁ : formule brute : $C_{17}H_{12}O_7$
Masse molaire : 328,3 g/mol

Formules brutes et masses moléculaires des aflatoxines



Propriétés physicochimiques:

- molécules de faible poids moléculaire (312 à 330 g/mol)
- très **peu solubles dans l'eau**, insolubles dans les solvants non polaires.
- **très solubles dans les solvants organiques** moyennement polaires (chloroforme et méthanol), elles sont assez facilement **extraites**
- **fluorescentes** (bleue pour les AFB "blue" et verte pour les AFG "green", l'AFM1 ayant une fluorescence bleu mauve.

1- Aflatoxines totales:

- ▶ Structure chimique ⇒ **très stables, résiste à l'acidité et surtout à la chaleur** (résistent à 250 °C)
- ▶ Cette stabilité rend leur élimination et, en conséquence la décontamination des denrées alimentaires, très problématique.
- ▶ **Les procédés de conservation (stérilisation, pasteurisation, lyophilisation, congélation...), ne détruisent pas ou très peu la plupart des mycotoxines.**



2- Aflatoxine M1:

- ▶ Résiste aux traitements usuels de conservation et de transformation des produits laitiers
- ▶ On retrouve la presque totalité de l'AFM1 dans le lait écrémé, et dans les produits obtenus par précipitation lactique (yaourts, fromages blancs, crèmes lactées...),
- ▶ Très peu dans le beurre (les AFM1 se lient aux protéines du lait)



Toxicocinétique:

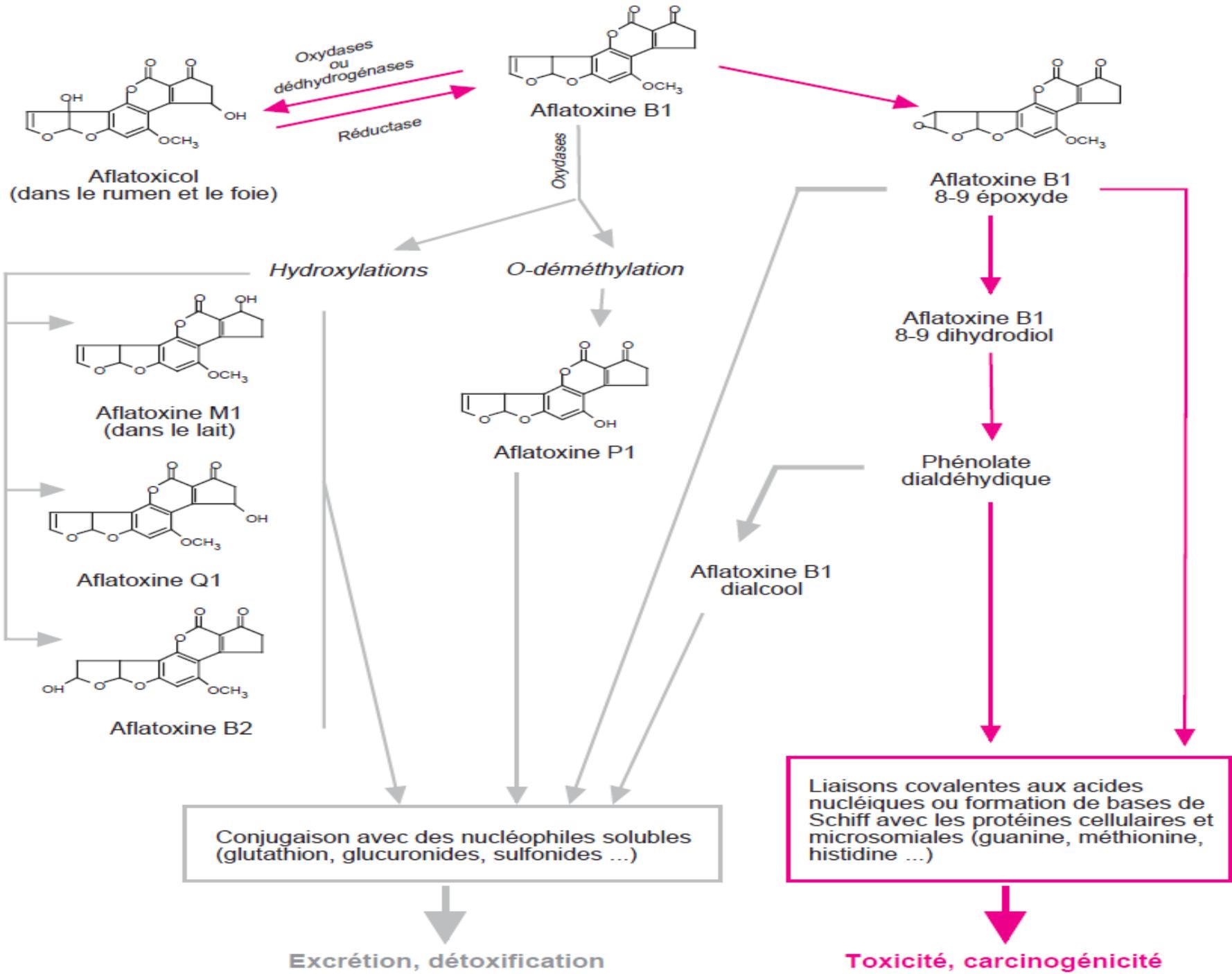
- ▶ Absorption=> **duodénum**, (chez les animaux monogastriques, 90% de la dose administrée).
- ▶ Distribution: **fixation aux protéines plasmatiques** « liaison à l'albumine +++ » (bioindicateur d'exposition)
- ▶ Métabolisme: AFB1 étant la plus étudiée.
- ✓ **phase I**: enzymes: mono oxygénases à cytochromes P450
 - hydroxylation => AFM1
 - époxydation=> AFB1 8,9-époxyde



-
- ✓ **phase II:**
 - Conjugaison de « l'AFB1 8,9-époxyde » au glutathion assurée par glutathion -S-transférase.
 - **association de l'AFB1 8,9-époxyde aux acides nucléiques (ADN) et l'intervention dans la synthèse des protéines, engendrant la génotoxicité et la cancérogénicité.**

Le site de formation d'adduits à l'ADN se situe en position N7 de la guanine.





Aflatoxicol
(dans le rumen et le foie)

Aflatoxine B1

Aflatoxine B1
8-9 époxyde

Hydroxylations

O-déméthylation

Aflatoxine B1
8-9 dihydrodiol

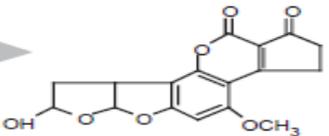
Aflatoxine M1
(dans le lait)

Aflatoxine P1

Phénolate
dialdéhyde

Aflatoxine Q1

Aflatoxine B1
dialcool

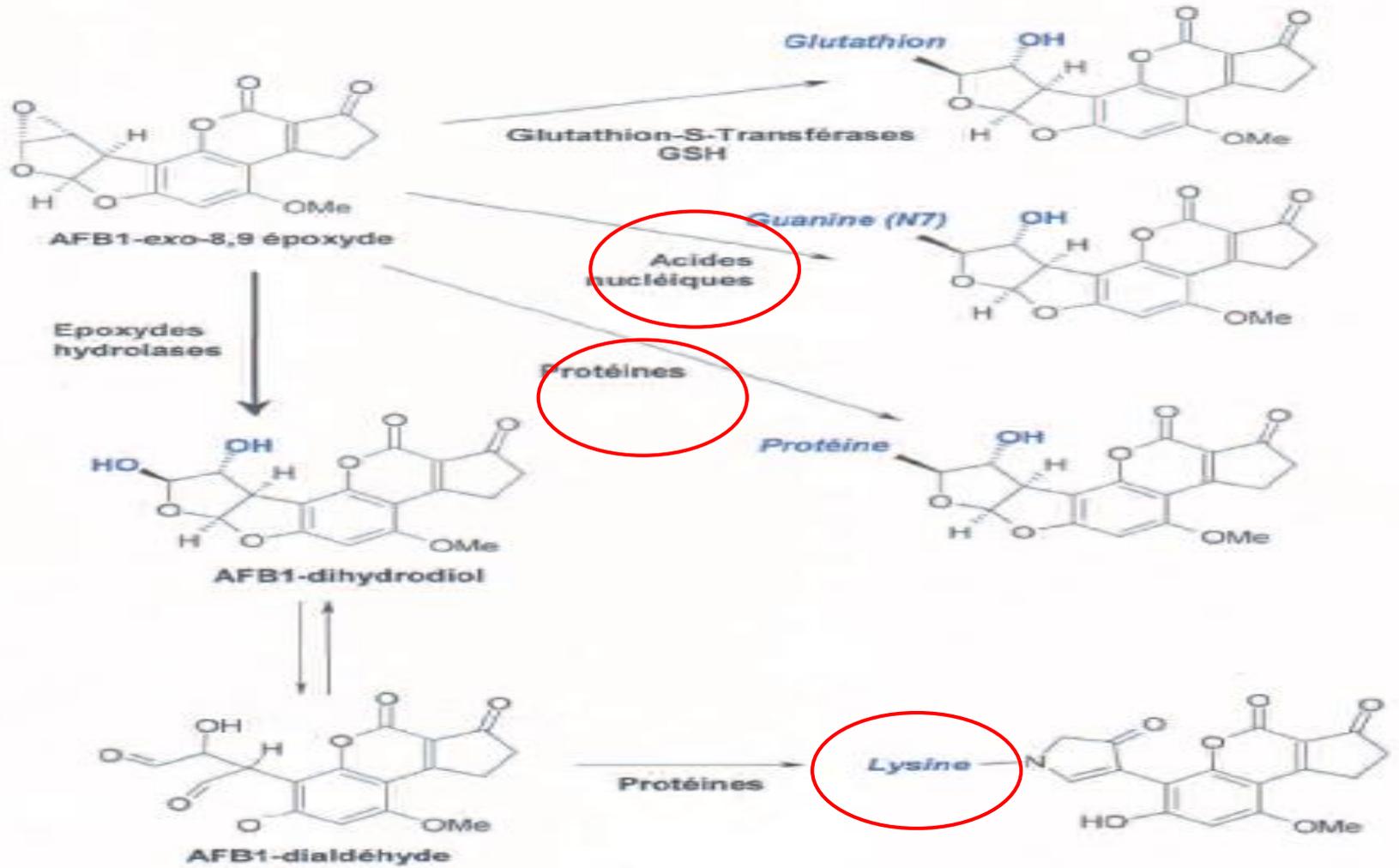


Conjugaison avec des nucléophiles solubles
(glutathion, glucuronides, sulfonides ...)

Liaisons covalentes aux acides nucléiques ou formation de bases de Schiff avec les protéines cellulaires et microsomiales (guanine, méthionine, histidine ...)

Excrétion, détoxification

Toxicité, carcinogénicité



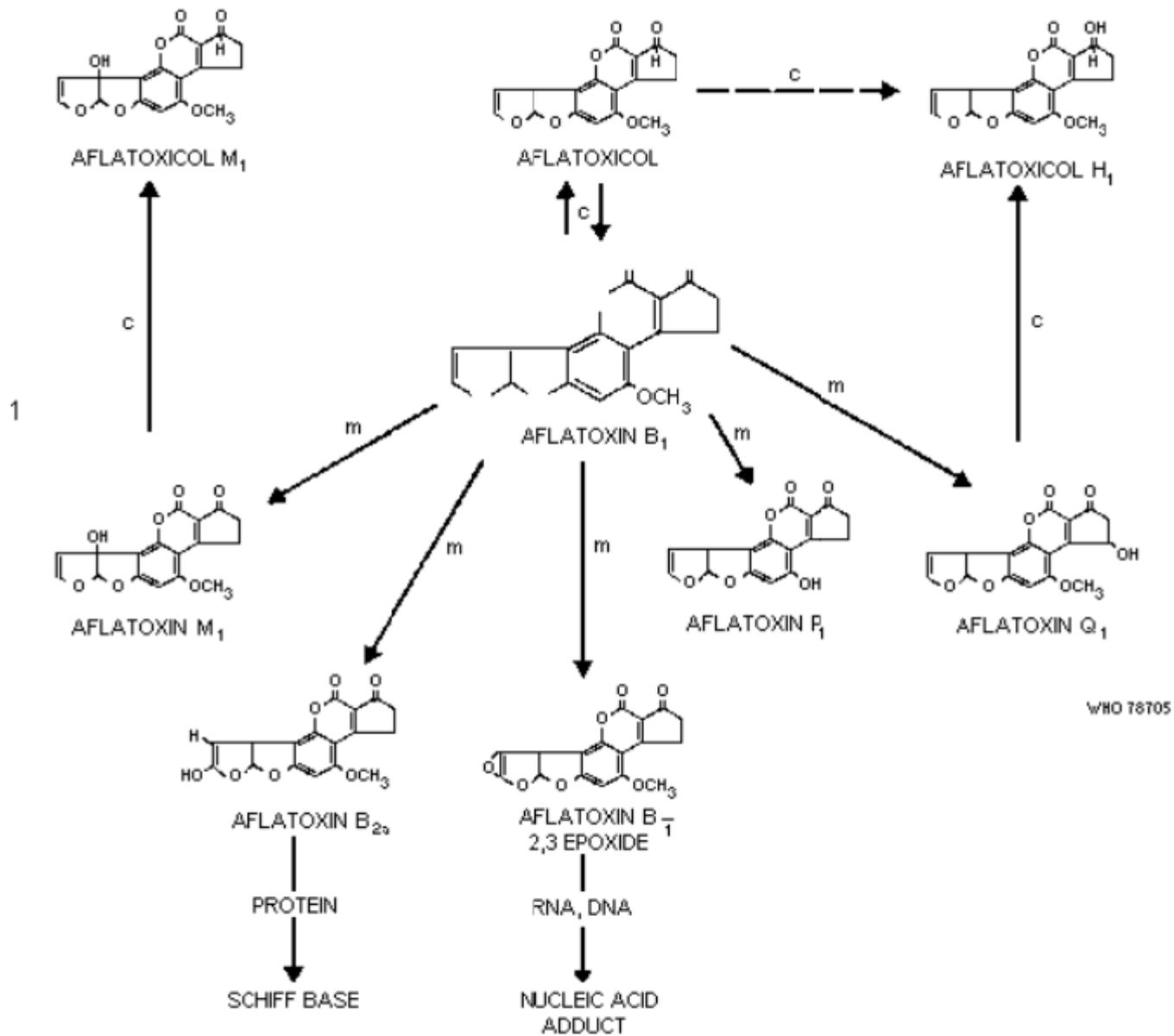


Fig. 2. Aflatoxin B₁ metabolism in the liver.

Figure 2 : Métabolisme de l'aflatoxine B1 dans le foie
 (rapport de l'IPCS, Environmental Health Criteria N°11, WHO, 1979, Fig.2)

▶ Elimination:

- ❑ AFM1, AFP1, AFQ1 sont éliminés dans les urines des mammifères exposés à l'AFB1.
- ❑ Seule l'AFM1 sera éliminée au niveau du lait.



Bio indicateurs d'exposition



Toxicité:

- ▶ AFB1: cancérogènes, mutagènes, tératogènes, hépatotoxiques et immunogènes.
- ▶ AFB1 > AFM1 > AFG1 > AFB2 > AFG2.
- ▶ AFB1: l'un des plus puissants cancérogènes d'origine naturelle.
- ▶ Aigue: DL50 (orale) 0,3 à 9mg/kg p.c



Symptomatologie de l'intoxication:



1- Aigue:

- ❖ hépatite aiguë, les symptômes cliniques typiques mais non spécifiques incluent jaunisse, dépression, anorexie, et diarrhée.
 - ❖ Glomérulonéphrites, congestion des poumons
 - ❖ La mortalité a atteint 25% lors d'intoxications en Inde.
 - ❖ le Kwashiorkor (hypo albuminémie et immunosuppression)
 - ❖ le syndrome de Reye (encéphalopathie et dégénérescence graisseuse des viscères)
-



2- Chronique:

- ❖ La plupart des études épidémiologiques tendent à montrer l'existence d'une corrélation entre une exposition chronique à l'aflatoxine via le régime alimentaire et une prévalence du cancer primitif du foie
- ❖ Existence d'autres facteurs : l'infection virale à l'hépatite B (HBV).



2- Chronique:

- ❖ CIRC a classé les aflatoxines (mélanges naturels) dans le **groupe 1**, l'AFM1 dans le groupe 2B et l'AFG1 dans le groupe 3 des **agents cancérigènes pour l'homme**.
 - ▶ En outre, l'AFB1 est **tératogène** et pourrait affecter les fonctions de reproduction.
-
- 

Valeurs toxicologiques de référence

- Le JECFA et le SCF n'ont pas fixé de dose journalière tolérable (DJT) pour les aflatoxines.
- la seule approche réaliste est de réduire l'exposition à un niveau aussi faible que possible suivant le principe **ALARA (As Low As Reasonably Achievable)**.



Suivi de l'exposition humaine : biomarqueurs

- ✓ le dosage de l'AFM1 dans l'urine et dans le lait, au sein de populations humaines, peut être considéré comme un marqueur d'exposition de ces populations.
- ✓ La mesure d'adduits de l'AFB1 à l'albumine sérique est un indicateur de l'intoxication.
- ✓ La détection des adduits à l'ADN dans les urines montrant qu'un processus de réparation du génome a été initié, peut être aussi utilisée comme indicateur d'exposition des populations aux aflatoxines. Mais de telles détections sont complexes et coûteuses à mettre en œuvre du point de vue analytique.



Réglementation dans l'alimentation

Le règlement 1881/2006/CE (abrogeant le règlement 466/2001/CE et ses modifications) portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires



Réglementation dans l'alimentation

teneurs maximales en aflatoxines exprimées en µg/Kg

Alimentation	Toxine	Matrice	Teneur maximale en µg/kg
Humaine	Aflatoxine B1	Arachides (cacahuètes) + autres graines + fruits secs	de 2, 5 ou 8 selon le produit et son stade de transformation
		Céréales	2 ou 5 selon le produit et son stade de transformation
		Certaines épices	5
		Préparations à base de céréales et aliments pour nourrissons et enfants en bas âge	0,1
	Aflatoxines B1+B2+G1+G2	Arachides (cacahuètes) + autres graines + fruits secs	de 4, 10 ou 15 selon le produit et son stade de transformation
		Céréales	4 ou 10 selon le produit et son stade de transformation
		Certaines épices	10
	Aflatoxine M1	Lait	0,05
		Préparations pour nourrissons et enfants en bas âge	0,025
	Animale	Aflatoxine B1	Matières premières des aliments pour animaux
Aliments complets/complémentaires			de 5 à 20 selon les espèces animales

teneurs maximales en aflatoxines B1 (µg/Kg) en alimentation animale

Types d'aliments	Teneur maximale en µg/kg (teneur en humidité de 12%)
Toutes les matières premières des aliments pour animaux	20
Aliments complets pour bovins, ovins et caprins à l'exception de :	20
- aliments complets pour bétail laitier	5
- aliments complets pour veaux et agneaux	10
Aliments complets pour porcs et volailles (à l'exception des jeunes animaux)	20
Autres aliments complets	10
Aliments complémentaires pour bovins, ovins et caprins (à l'exception des aliments complémentaires pour bétail laitiers, veaux et agneaux)	20
Aliments complémentaires pour porcs et volailles (à l'exception des jeunes animaux)	20
Autres aliments complémentaires	5



**Ochratoxine A (OTA),
une toxine néphrotoxique**

