

Mycotoxines: occurrence et risques pour la santé

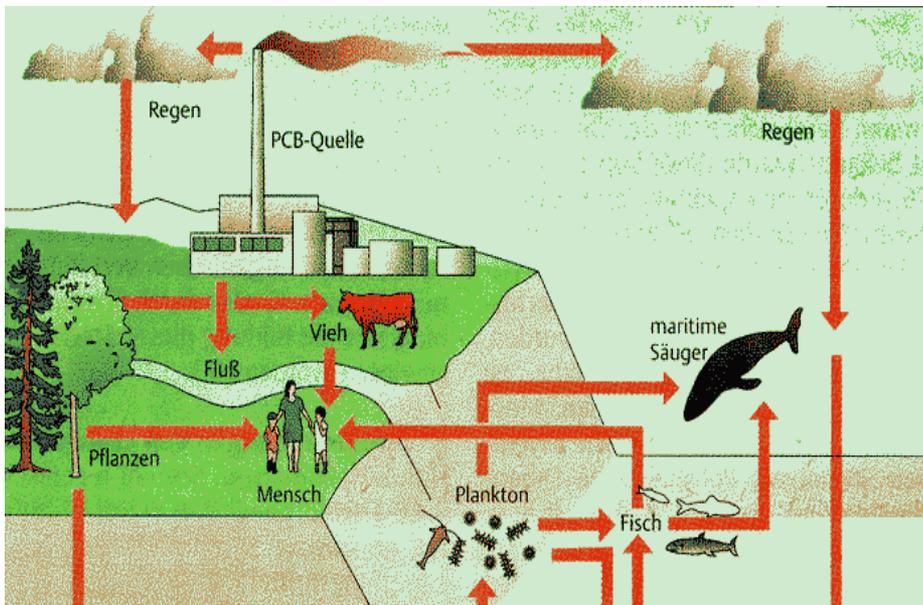
**Gilbert Moris (Laboratoire National de Santé;
service de surveillance alimentaire)**

Plan de la présentation

1. Introduction: les mycotoxines c'est quoi?
2. Types de champignons producteurs
3. Chimie et toxicologie des mycotoxines
4. Mycotoxines émergentes
5. Risques d'exposition
6. Méthodes d'analyse au laboratoire



Contaminants résultant des pratiques agricoles (pesticides, nitrates)



Contaminants environnementaux (métaux lourds, PCB, dioxines)



**Contaminants de transformation
(hydrocarbures aromatiques
polycycliques, acrylamide)**



**matériaux en plastique en
contact: (phthalates,
bisphénol A, amines
primaires aromatiques)**

additifs



nitrates



édulcorants



colorants

Les mycotoxines sont des contaminants naturels

=métabolites secondaires produits par les

moisissures du genre *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (surtout sur les céréales)



-Les mycotoxines sont thermostables et ne sont pas détruites par les procédés de transformation habituels

- des aliments exempts en moisissures peuvent quand même contenir des mycotoxines

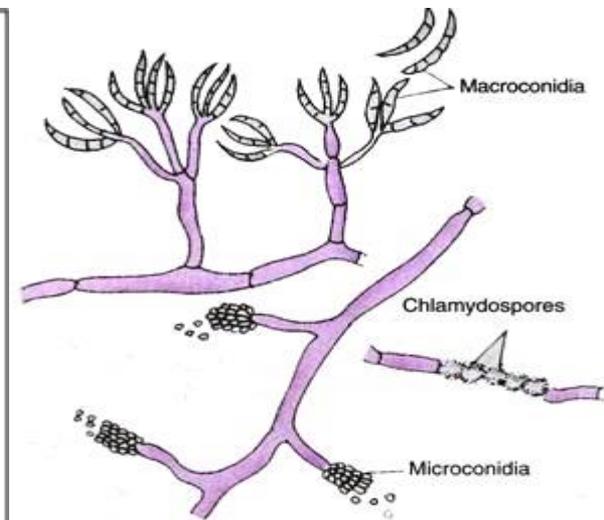
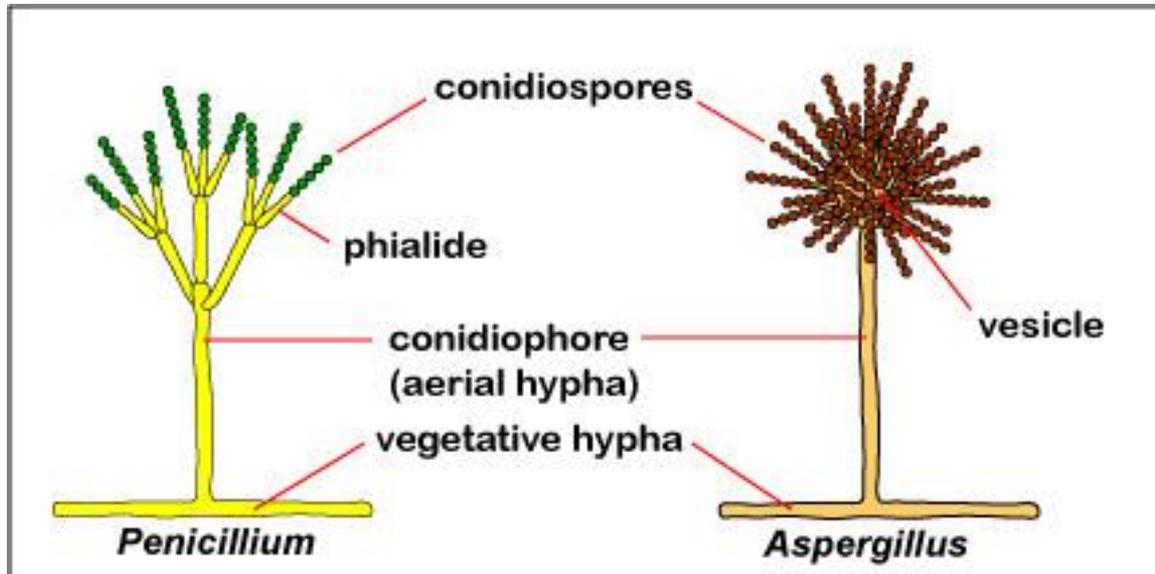
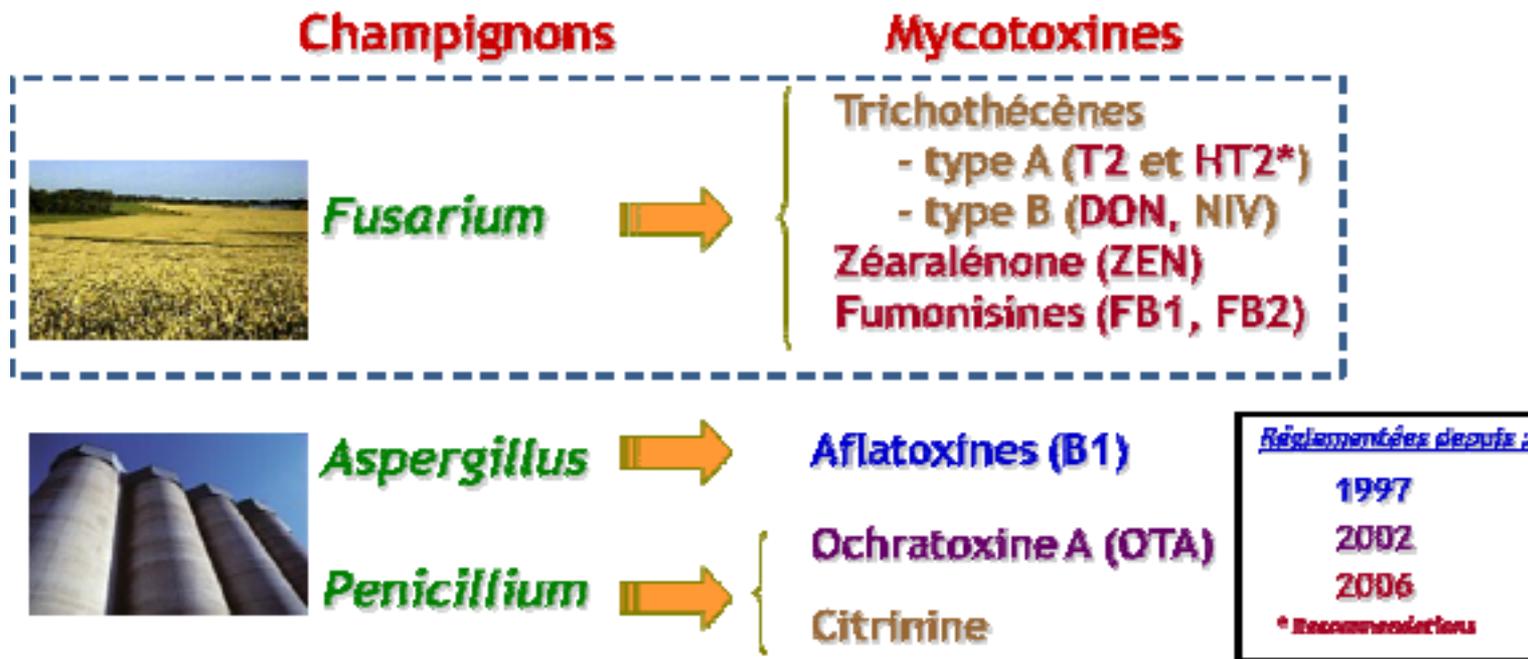


Fig. 16.7. *Fusarium*. Macroconidia and clustered microconidia. Portion of a hypha bearing chlamydoconidia is also shown.

Les mycotoxines peuvent être produites:

- sur le champ
- pendant le stockage



Les niveaux de contamination en mycotoxines sont souvent de l'ordre du **ppb** ou **µg/kg**.

Source : ARVALIS - Institut du végétal

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

$$A_w = P/P_0$$

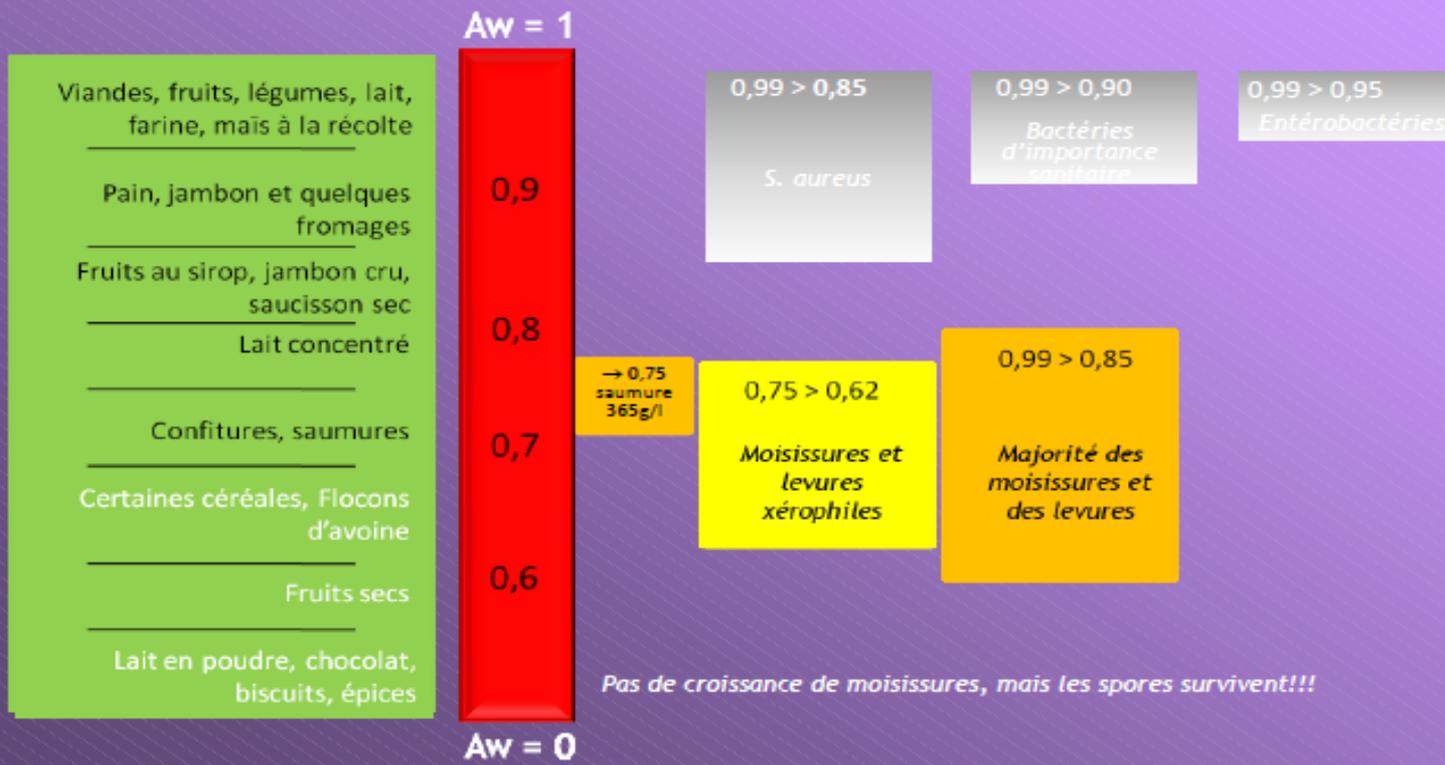
P = pression de la vapeur d'eau à la surface de l'aliment (=pression à laquelle l'eau serait en ébullition)

P_0 = pression de vapeur d'eau pure

Pour l'eau pure $A_w = 1$

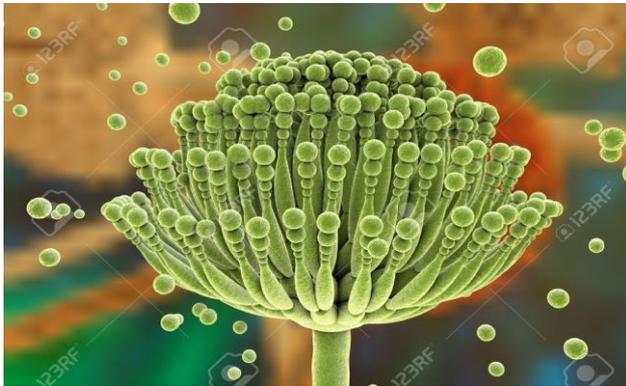
Activité de l'eau, aliments et microorganismes

$$A_w = HR/100$$



Genre *Aspergillus*

- surtout présentes dans les régions (sub-)tropicales
- conidiophore en forme d'arrosoir et de couleur différentes: noires, brunes, vertes
- aliments principalement concernés: céréales, fruits à coque, épices

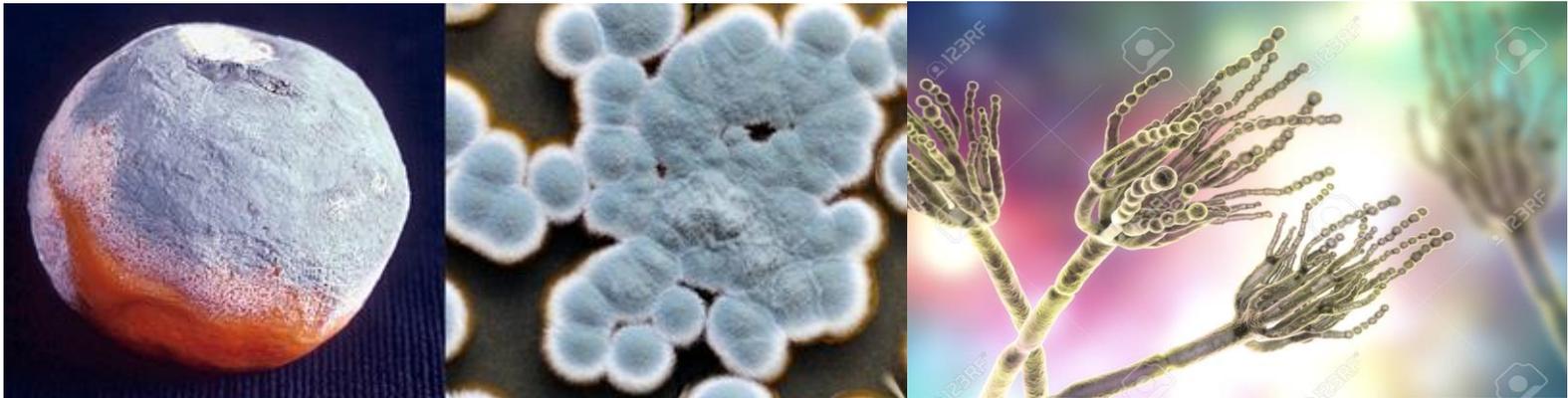


Exemple: *Aspergillus flavus* productrice d'aflatoxines

- température optimale de croissance : 33°C
- toxicogénèse entre 13 et 37°C

Genre *Penicillium*

- appareil sporifère en forme de pinceau
- spores vertes qui deviennent brunes à maturité
- aliments principalement concernés: céréales, pommes, café

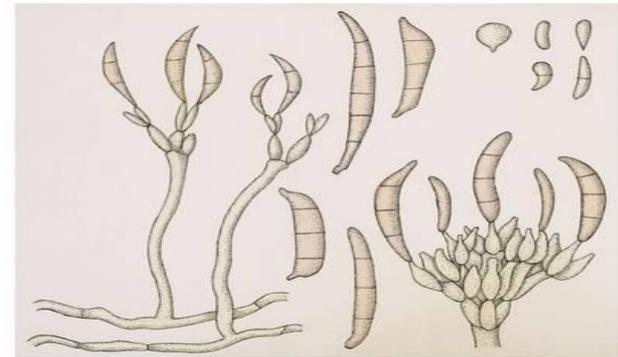


Exemple: *Penicillium expansum* productrice de patuline dans jus de pommes

- température optimale de croissance : 23-27°C
- toxicogénèse entre 0 et 24°C

Genre *Fusarium*

- moisissures de champ
- appareil sporifère avec macroconidies fusiformes
- colonies blanches ou légèrement rosées
- aliments principalement concernés: céréales



Exemple: *Fusarium graminearum* productrice de déoxynivalénol et de zéaralénone dans céréales

- température optimale de croissance : 25-30°C
- toxicogénèse optimale entre 8 et 12°C

Mycotoxines = métabolite secondaire =

- *Une molécule non indispensable à un organisme*
- *Qui ne participe pas à l'assimilation de la nutrition*
- *Qui dérive toutefois parfois des mêmes voies de biosynthèse*
- *Peuvent servir de facteur de défense contre d'autres champignons, bactéries, animaux*



Deoxynivalenol
Zearalenone
Ochratoxin A



Aflatoxin M₁



Ochratoxin A



Patulin



HT2 and T2 in oats
Ochratoxin A in dried fruit and cereals
Aflatoxins in nuts

Fumonisin

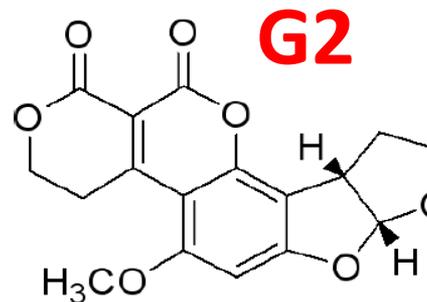
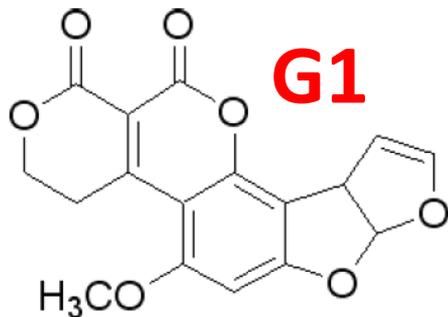
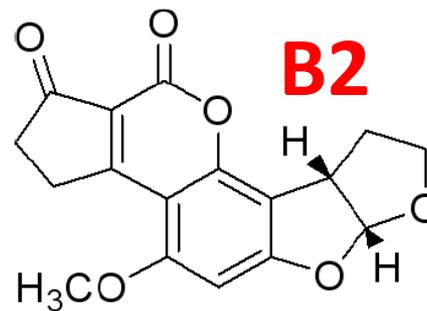
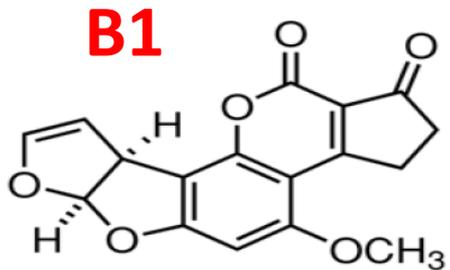


les aflatoxines B1, B2, G1, G2

- produites par le genre *Aspergillus* surtout pendant le stockage
- Les aflatoxines: cancérogènes de classe 1 (fruits à coque, céréales, épices)

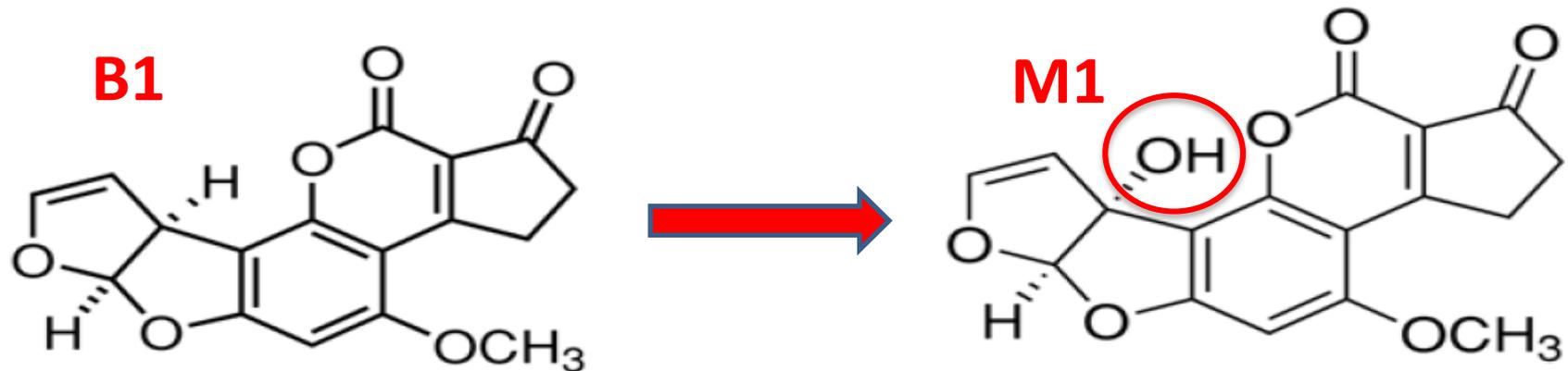
(L'aflatoxine B1 représente le composé le plus cancérogène connu!)

 formation de dérivés époxyde se liant de manière covalente à l'ADN 



l'aflatoxine M1

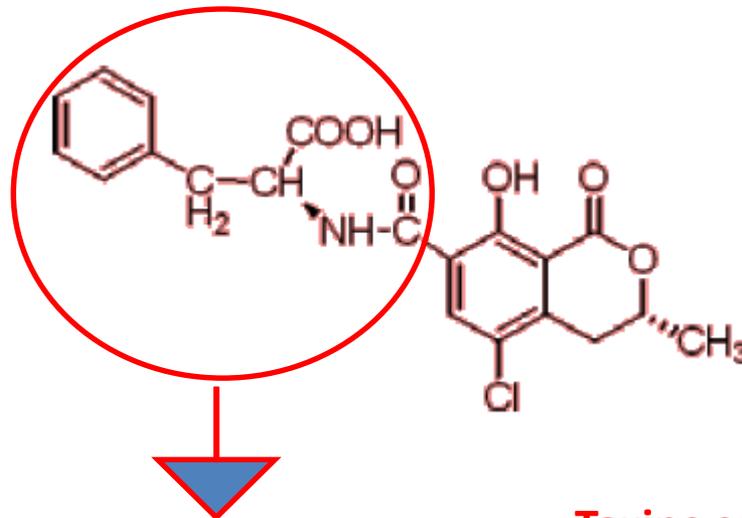
= métabolite de l'aflatoxine B1 trouvée dans le lait et les produits laitiers



Mécanisme de toxicité équivalent à celui pour l'aflatoxine B1, mais à des doses supérieures

l'ochratoxine A

- produit e.a. par *Aspergillus ochraceus* (régions tropicales) resp. *Penicillium verrucosum* (région tempérées)
- hépatotoxique et néphrotoxique (céréales, vin, café, raisins secs)

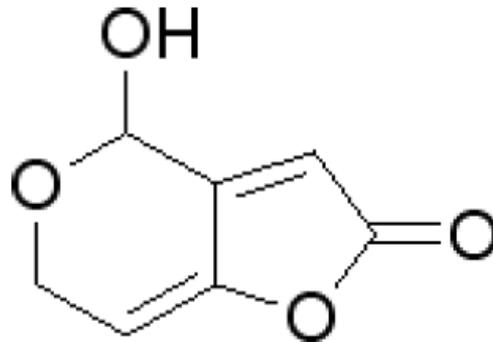


Phénylalanine
group

Toxine se formant déjà sur le champ

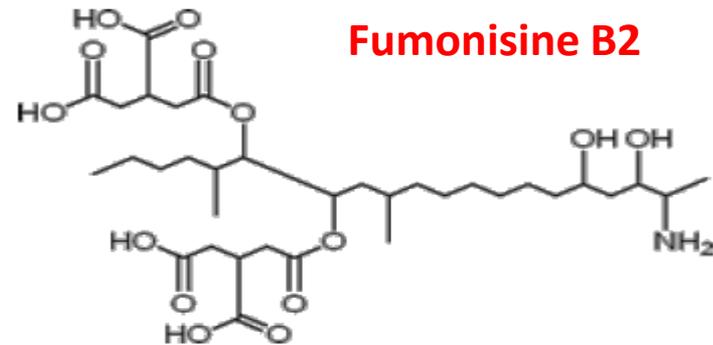
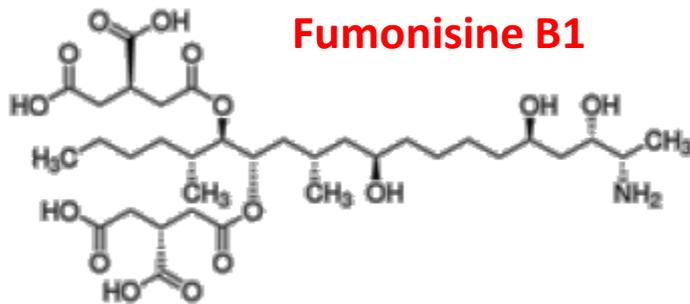
la patuline

- produite e.a. par *Aspergillus*, *Penicillium*
- hépatotoxique (jus et compotes de pomme)
- problématique surtout pour les jus de pomme pour bébés
car interdiction d'utiliser des fongicides pour inhiber formation patuline



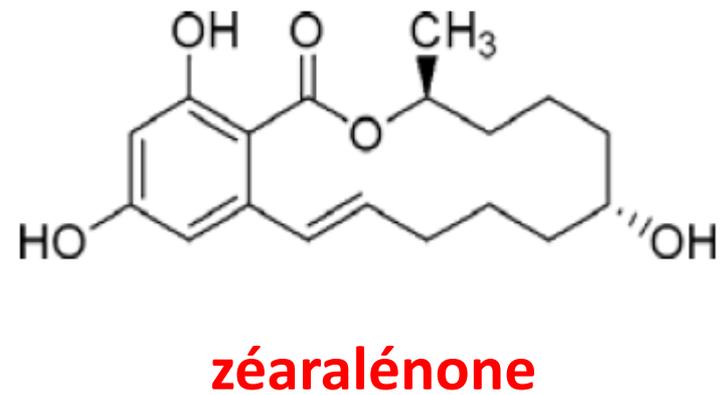
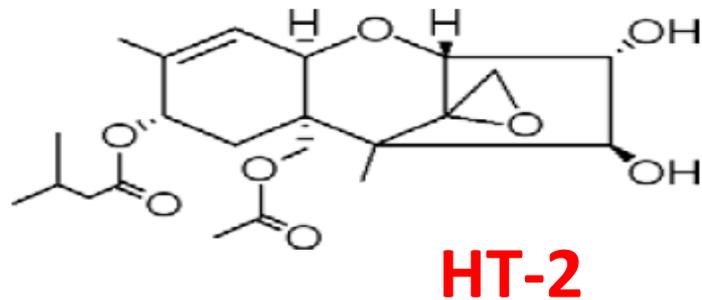
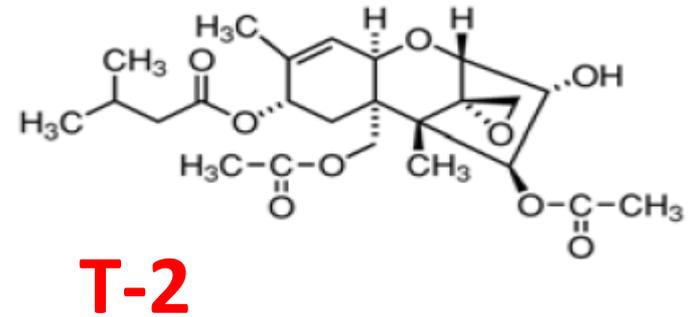
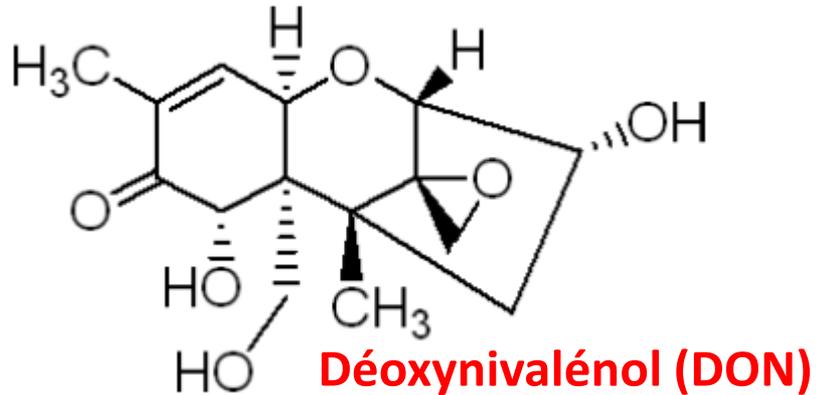
« Fusarium toxins »

-produites par moisissures du genre Fusarium



- associées au cancer de l'oesophage
(produits à base de maïs)

« Fusarium toxins »



« Fusarium toxins » points communs et particularités



- toutes ces toxines sont produites déjà sur le champ (exceptionnellement aussi pendant le stockage)
- sont produites aussi pendant les saisons sèches
- les concentrations atteintes pour DON varient de 10 à 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pendant les saisons sèches jusqu'à $\gg 1000 \mu\text{g}/\text{kg}$ en saisons humides!
- toutes les toxines *Fusarium* du genre Trichothécènes (DON, T-2, HT-2) sont cytotoxiques, car inhibant la synthèse protéique
- DON en plus immunosuppressive
- Zéaralénone est oestrogénique

Mycotoxines ré-émergentes: alcaloïdes de l'ergot

-produites par la moisissure *Claviceps purpurea*

-responsable de la maladie de l'ergotisme
(maladie du feu de Saint-Antoine)



-provoque des hallucinations passagères semblables au LSD (*le LSD est un dérivé amide de l'acide lysergique produit par Claviceps*)

-les alcaloïdes peuvent se fixer sur les récepteurs α -adrénergiques, les récepteurs dopaminergiques et les récepteurs sérotoninergiques)

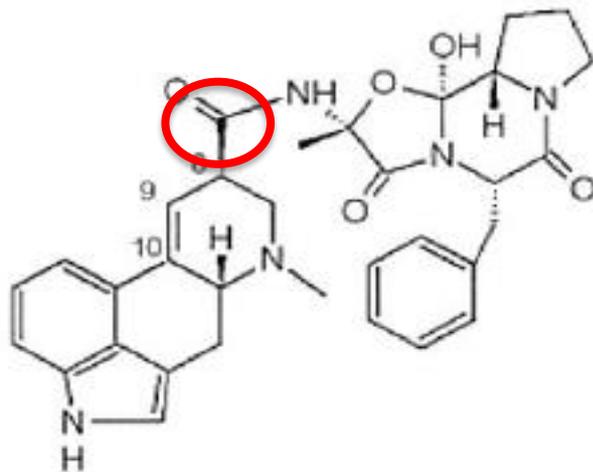
-provoquent une vasoconstriction artériolaire entraînant des gangrènes

-infection surtout du seigle, mais d'autres céréales sont également concernées

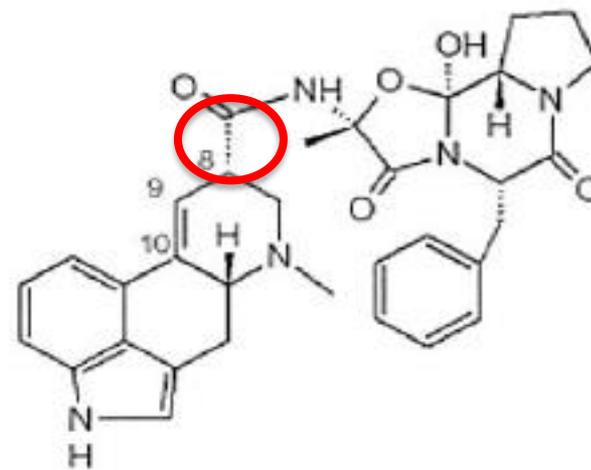
-reste un problème dans le domaine vétérinaire

Mycotoxines ré-émergentes: alcaloïdes de l'ergot

- Les alcaloïdes de l'ergot sont des dérivés de l'acide lysergique
- Des alcaloïdes peuvent être présents dans les graines de céréales même après élimination physique des sclérotés
- La réglementation européenne prévoit l'analyse de 6 molécules -ergometrine, ergosine, ergotamine, ergocornine, ergocristine, and ergocryptine + leur 6 S-diastéréoisomères (épimères à la position C8)



Ergotamine

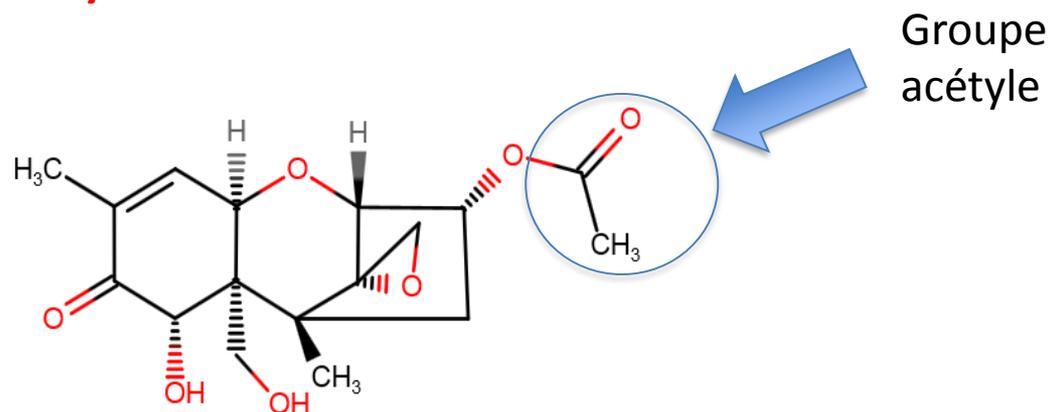


Ergotaminine

mycotoxines émergentes

- **Mycotoxines « masquées »: mycotoxines adsorbées à la matrice et difficiles à extraire, mais qui dans le système digestif peuvent être libérées**
- **Mycotoxines métabolisées par la plante, p.ex. acétylées ou glycosylées, qui se trouvent hydrolysées dans le système digestif ou métabolisées par les bactéries intestinales pour donner la molécule-parent**

Exemple: 3-acétyl-déoxynivalénol:



Conduit à sous-estimation de la « vraie » teneur en mycotoxines et de leur potentiel toxigène!

Mycotoxines émergentes

- d'autres mycotoxines produites par le genre *Fusarium* et *Alternaria* font l'objet de monitoring de la part de l'Union Européenne afin de faire une évaluation des risques
- Beauvéricine
- Enniatines
- Stérigmatocystine
- Moniliformine
- diacétoxyscirpenol
- Toxines *Alternaria*

« mycotoxines » limites réglementaires

mycotoxine	Limite réglementaire la plus élevée (µg/kg)	Limite régl. Baby food (µg/kg)
Aflatoxine B1	8 (cacahuètes)	0,1 (céréales)
Aflatoxine M1	0,05	0,025
patuline	50	10
Ochratoxine A	30 (épices)	0,5
zéaralénone	200 (maïs)	20
Fumonisines B1 + B2	1000 (maïs)	200
Désoxynivalénol	750	200
T-2	n.a.	n.a.
HT-2	n.a.	n.a.



= 25 ng/kg=25
pg/g=25µg/tonne!

« mycotoxines » valeurs TDI

mycotoxine	Valeur TDI (µg/kg poids corporel)
Aflatoxine B1	0,00015*
patuline	0,4
Ochratoxine A	0,17
zéaralénone	0,2
Fumonisines B1 + B2	2,0
Désoxynivalénol	1,0
T-2 + HT-2	0,1

* 24. Kuiper-Goodman, T.
Mycotoxins: risk
assessment and legislation.
Toxicol. Lett.
, 82/83, 853-859, 1995

Relations entre TDI et limites maximales réglementaires: PATULINE

Cas d'un jus de pomme contenant $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ($\pm 10 \mu\text{g}/\text{l} = \text{LMR}$) de patuline: 1 enfant de 10 kg a « droit » à $0,4 \times 10 = 4 \mu\text{g}$ patuline par jour

 cette quantité est atteinte après consommation de 400 ml de jus de pomme (= 2 Tetra-Pack)

Cas d'un buveur d'eau-de-vies (LMR= $50 \mu\text{g}/\text{l}$) : un homme de 80 kg a « droit » à $0,4 \times 80 = 32 \mu\text{g}$ patuline par jour

 cette quantité est atteinte après consommation de 640 ml d'eau-de-vie (il aura cependant absorbé ± 270 ml d'alcool éthylique)

Relations entre TDI et limites maximales réglementaires: ochratoxine A

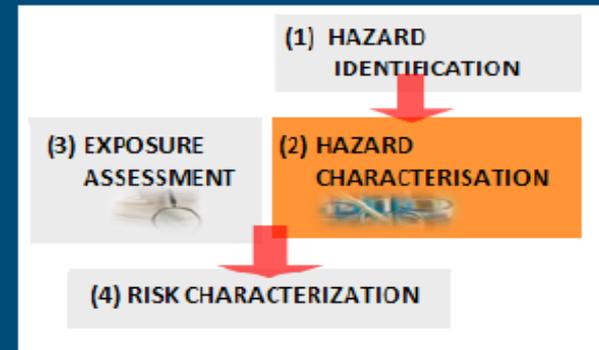
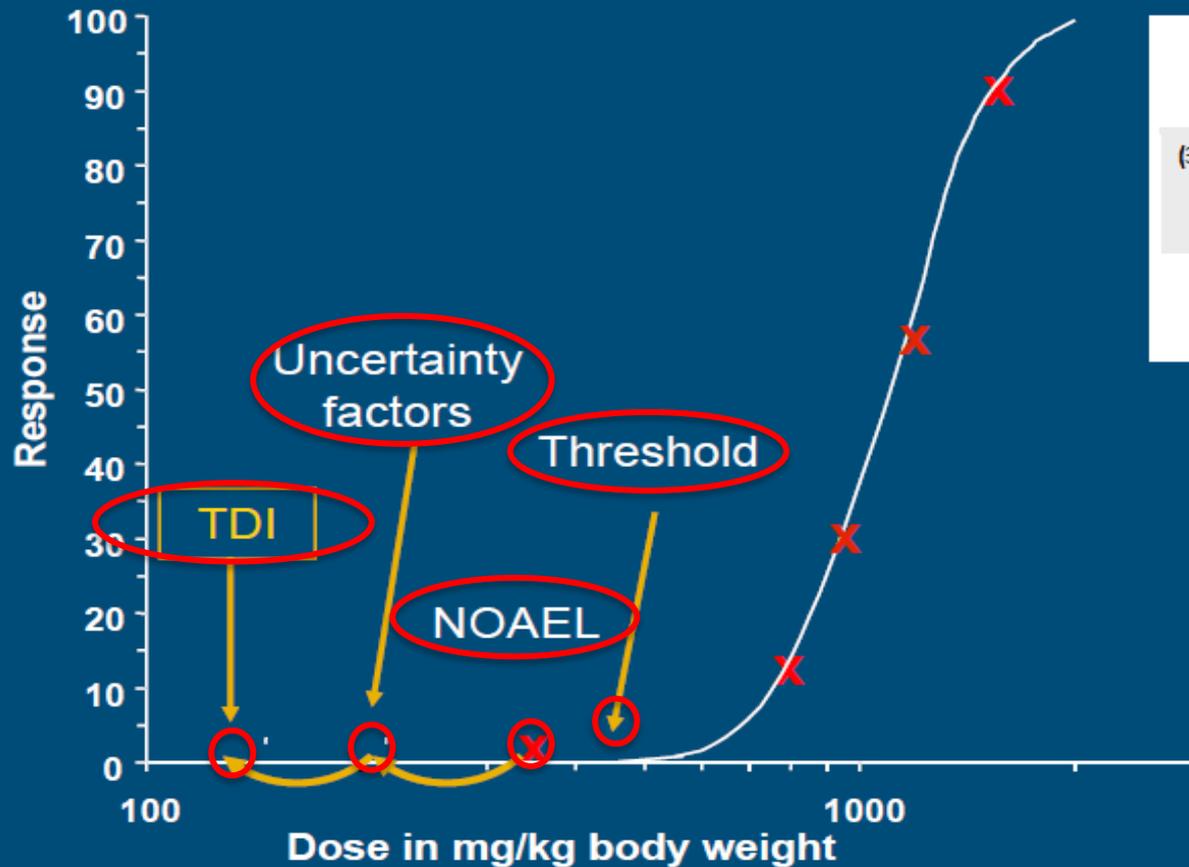
Cas d'une céréale contenant $3 \mu\text{g}/\text{kg}$ (=LMR) d'ochratoxine A: 1 personne de 70 kg a « droit » à $0,17 \times 70 = 11,9 \mu\text{g}$ d'ochratoxine A par jour

 cette quantité est atteinte après consommation de 4kg de céréales

Cas d'un buveur de vin (LMR= $2 \mu\text{g}/\text{kg} = \pm 2 \mu\text{g}/\text{l}$) : un homme de 80 kg a « droit » à $0,17 \times 80 = 13,6 \mu\text{g}$ d'ochratoxine A par jour

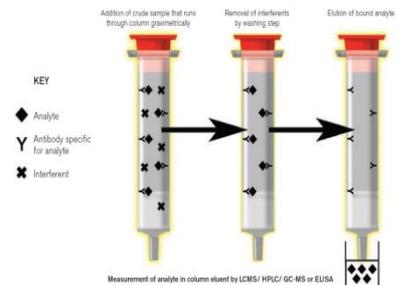
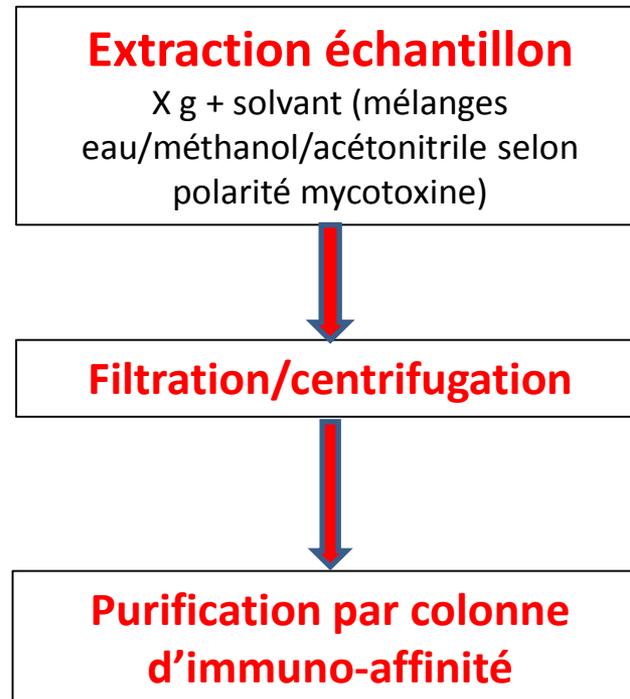
 cette quantité est atteinte après consommation de 6,8 l de vin (il aura cependant absorbé $\pm 900 \text{ ml}$ d'alcool éthylique)

Dose response data for the critical effect



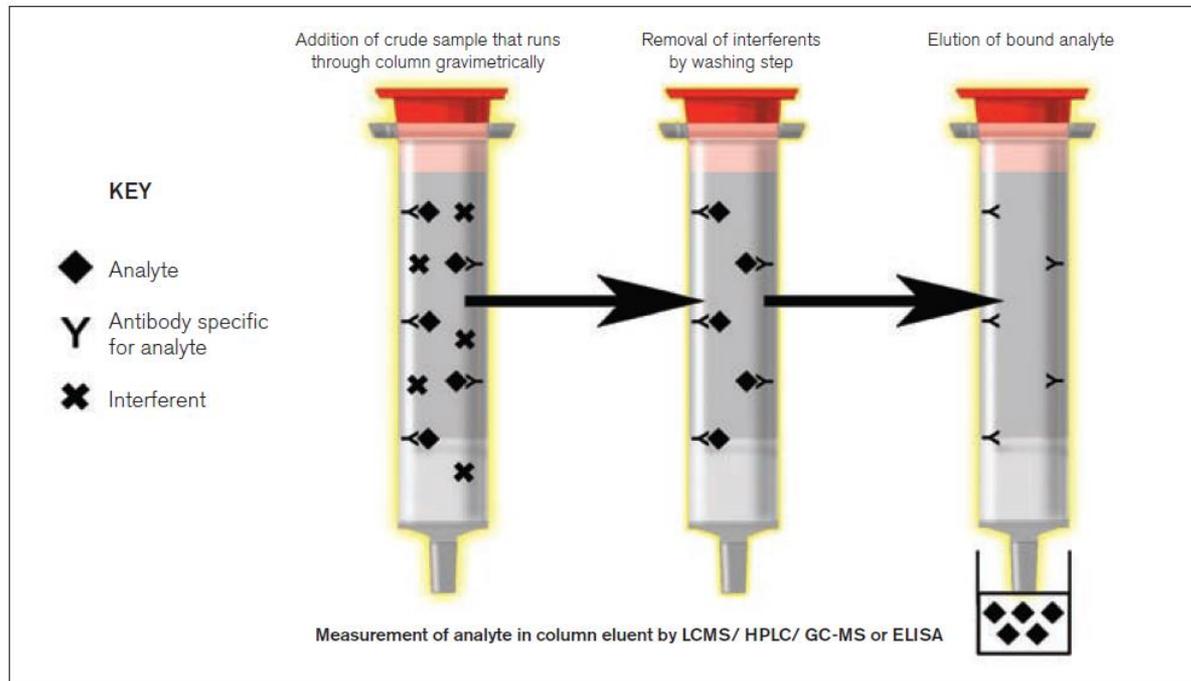
(after M. Eskola, 2011)

Méthodes d'analyse: préparation de l'échantillon



Méthodes d'analyse: purification par colonnes d'immuno-affinité

THE PRINCIPLE OF SAMPLE PURIFICATION BY IMMUNO-AFFINITY COLUMNS



Techniques de détection utilisées:

-HPLC-FLD (détection fluorimétrique)



Avantages:

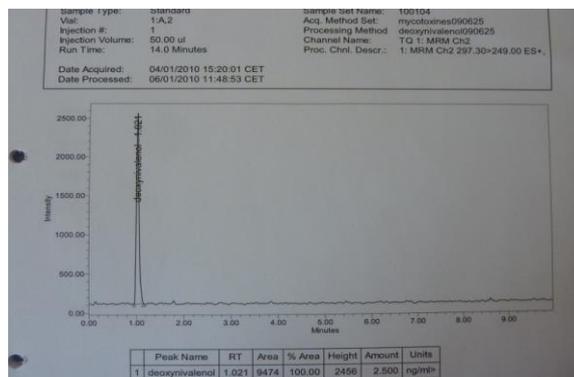
- bonne spécificité en combinaison avec les colonnes IAC
- très bonne linéarité sur une échelle de 4 à 5 « magnitudes »

Désavantages:

- parfois pics coéluant trompeurs
- seulement applicable pour mycotoxines « fluorescentes » (sinon nécessité de dériver)

Techniques de détection utilisées: UPLC-MS/MS

(Ultra High Performance Liquid Chromatography avec détection par spectrométrie de masse)



- Avantages:**
- très bonne spécificité par utilisation de deux transitions spécifiques, même sans purification par colonnes IAC
 - possibilité de détecter plusieurs mycotoxines à la fois, même sans séparation chromatographique

Désavantages: effets matrices (quantification parfois très difficile)

Je vous remercie de votre attention!

Merci fier är Ödmärksamhet!