

LES MYCOTOXINES: UN DANGER DE SANTÉ PUBLIC

GUEZLANE-TEBIBEL Nadjet^{1*}, BOURAS Noureddine^{2,3}
OULD EL HADJ Mohamed Didi⁴

⁽¹⁾Laboratoire de Microbiologie, Faculté des Sciences Biologiques,
Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene,
Bab Ezzouar, Alger, Algérie

⁽²⁾Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la
Terre, Université de Ghardaïa, BP 455, Ghardaïa 47000, Algérie

⁽³⁾Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM)
Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger, Algérie

⁽⁴⁾Laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi-arides
Université Kasdi Merbah Ouargla, 30000 Ouargla, Algérie

E-mail: nanatebibe@hotmail.com

Résumé.- Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par des moisissures appartenant principalement au genre *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* et *Alternaria*. Elles sont susceptibles d'être présentes dans une large gamme d'aliments végétaux ou animaux, milieu favorable à leur développement tout en provoquant une perte de leur valeur nutritive et commerciale. Leur élaboration et leur toxigenicité sont influencées par plusieurs paramètres intrinsèques et extrinsèques comme l'espèce fongique, la température et la nature du substrat. Les aflatoxines produites par les *Aspergilli* section *Flavi* retiennent dans le monde une attention particulière. Elles peuvent induire un effet toxique au niveau de plusieurs organes humains et animaux, et l'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer (IARC) a classé les aflatoxines parmi les cancérigènes. Les mycotoxines présentent donc un risque de santé publique.

Mots clés.- Mycotoxines, *Aspergillus*, moisissures, aliment, cancer.

MYCOTOXINS: A PUBLIC HEALTH HAZARDS

Abstract.- Mycotoxins are secondary metabolites produced by molds belonging mainly to the genus *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* and *Alternaria*. They are likely to be present in a wide range of plant foods or animal environment favorable to their development while causing a loss of nutritional and commercial value. Their development and toxigenicity are influenced by several intrinsic and extrinsic parameters such as the fungal species, the temperature and the nature of the substrate. Aflatoxins produced by *Aspergilli* section *Flavi* retain worldwide attention. They can induce toxic effects in several human and animal organs, and the International Agency for Research on Cancer (IARC) classified aflatoxins as carcinogenic molecules. Mycotoxins therefore present a public health risk.

Key words.- Mycotoxins, *Aspergillus*, mold, food, cancer.

1.- Introduction

Les consommateurs sont aujourd'hui très sensibles à la notion du risque alimentaire. Si le risque infectieux ou parasitaire est bien compris, celui associé à la présence naturelle des moisissures (champignons microscopiques filamenteux) et de leurs toxines au sein de l'alimentation est le plus souvent ignoré. De nos jours, la qualité et la sécurité des produits agro-alimentaires courants sont menacées par un grand nombre de toxines naturelles, les

mycotoxines. Leur contamination par les champignons microscopiques toxigènes et leur impact néfaste sur la santé humaine et animale ainsi que sur le commerce international sont de plus en plus approuvés par les autorités aussi bien dans les pays développés que dans les pays en voie de développement.

En effet dans certaines conditions climatiques ou de mauvaise conservation, ces micro-organismes peuvent se développer et conduire à une production de mycotoxines pouvant être néfaste à la santé des animaux et de l'homme en provoquant un certain nombre de troubles voire des maladies graves.

Plusieurs espèces de ces micromycètes appartenant principalement aux quatre genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* et *Alternaria* sont aptes à excréter une ou plusieurs mycotoxines: aflatoxines, ochratoxines, fumonisines, trichotécènes, patuline, zéaralénone, alternariols, etc.

Le développement non souhaité des moisissures sur une denrée est associé à de multiples nuisances: modification de l'aspect de l'aliment et de ses caractéristiques organoleptiques et chimiques [1]. Ces aléas conduisent généralement à l'élimination des produits, ce qui entraîne aujourd'hui à l'échelle mondiale une perte de la production alimentaire estimée à 5 à 10% [2].

Environ 4,5 milliards de personnes dans les pays en voie de développement sont exposés à des denrées alimentaires dont la contamination par les aflatoxines et les ochratoxines n'est pas contrôlée. Les mycotoxines sont donc un problème majeur.

L'Algérie, pays importateur de produits en grains, attentif au danger des moisissures toxigènes et disposant très peu de laboratoires utilisant en routine le dosage des mycotoxines, n'applique pas régulièrement au niveau des ports stratégiques les diverses mesures préventives ou procédures de surveillance afin de palier au dommage notable sur la santé du consommateur.

Jusqu'à présent, il y a très peu d'informations sur le taux de mycotoxines préjudiciable engendré par ces contaminants naturels pervers; par conséquent l'ingestion régulière qui a lieu, fait susciter des questionnements sur les champignons toxigènes à rechercher, les relations dose-effet, et les outils les plus efficaces à mettre en place pour freiner cette flambée ou cauchemar épidémique.

En effet des études récentes réalisées sur des denrées alimentaires commercialisées en Algérie ont mis en évidence la présence d'aflatoxines et d'ochratoxines dans le blé et les arachides [3, 4, 5].

L'objectif recherché dans la présente étude, est de faire le point sur l'état des connaissances dans le domaine du risque alimentaire lié à la présence des mycotoxines et leurs effets sur l'homme, l'animal et l'agriculture.

2.- Généralités

2.1.- Mycotoxines

2.1.1.- Définition

Du grec *mukos* (champignon) et du latin *toxicum* (poison), le terme mycotoxines désigne des substances naturelles produites par un métabolisme secondaire des moisissures

tout en exerçant un pouvoir toxique réel pour le consommateur (homme et animal) une fois ingérées même en faibles concentrations [6]. Les mycotoxines sont dites métabolites secondaires (ou idiolites) car dans la plupart des cas, leur synthèse démarre durant la fin de la période de croissance et le début de la phase stationnaire (idiophase). Les mycotoxines ne sont pas directement nécessaires à la vie du champignon producteur.

Il s'agit de petites molécules peu solubles dans l'eau, généralement non dégradables par les organismes vivants et très stables à la chaleur (jusqu'à 250°C) puisque nous pouvons les retrouver dans les aliments après cuisson ou même après stérilisation et aux pH extrêmes. Leur durée de vie dans l'aliment est plus longue que celles des moisissures les ayant synthétisées. Les métabolites secondaires des moisissures ne sont pas tous des mycotoxines.

2.1.2.- Différentes mycotoxines rencontrées dans les aliments

Plus de 2500 mycotoxines ont été répertoriées, mais seule une trentaine posséderait des propriétés toxiques réellement préoccupantes pour l'homme ou l'animal (tab. I).

Tableau I.- Principales mycotoxines et moisissures productrices retrouvées en alimentation humaine et/ou animale [7]

| Mycotoxines | Champignons producteurs | Denrées alimentaires |
|---|---|---|
| Aflatoxines B₁, B₂, G₁ et G₂ | <i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i> , <i>A. bombycis</i> , <i>A. pseudotamarii</i> , et <i>A. ochraceoroseus</i> | Arachides, céréales, graines de coton, épices, fruits, etc. |
| Ochratoxines A, B et C | <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>A. westerdijkiae</i> , <i>A. carbonarius</i> , <i>A. niger</i> , <i>Penicillium viridicatum</i> , <i>P. verrucosum</i> et <i>P. nordicum</i> | Légumes, céréales et graines de café, fromages, poissons, viandes, etc. |
| Zéaralénone | <i>Fusarium graminearum</i> et <i>F. sporotrichoides</i> | Maïs, blé, orge, etc. |
| Fumonisines | <i>Fusarium moniliforme</i> | Maïs et autres céréales. |
| Trichothécènes | <i>Fusarium</i> spp. | Maïs et blé. |
| Patuline | <i>Aspergillus</i> spp. et <i>Penicillium</i> spp. | Fruits (pommes, prunes, pêches, poires, abricots). |
| Citrinine | <i>Penicillium rubrum</i> , <i>P. purpurogenum</i> , <i>P. viridicatum</i> , <i>P. citrinum</i> <i>A. ochraceoroseus</i> . | Orge, blé, riz, soja et seigle. |

En 1960, des élevages industriels de volailles de la région de Londres furent décimés à la suite de la consommation de tourteaux d'arachide en provenance du Brésil ("turkey X disease" ou maladie de la dinde). Un an plus tard, la relation est faite entre cette intoxication et la présence d'*Aspergillus flavus* et on isole la première aflatoxine révélée être la substance la plus cancérigène que l'on connaisse. Les mycotoxines ont alors une toxicité potentielle et réelle pour les hommes et les animaux par ingestion, inhalation, et plus rarement par contact.

Les mycotoxines les plus rencontrées sur les produits agricoles et faisant l'objet d'une réglementation sont principalement les aflatoxines, les ochratoxines, les trichothécènes, la fumonisine et la patuline. La FAO (Food and Agriculture Organisation)

rapporte qu'environ un quart des récoltes de la planète sont susceptibles d'être contaminées par les mycotoxines [2]. Leurs propriétés toxiques bien établies aujourd'hui, sont carcinogènes, tératogènes, trémorigènes, diabétogènes, hépatotoxiques, néphrotoxiques, hématotoxiques, mutagènes, immunotoxiques, allergiques, neurotoxiques, immunosuppresseurs, nécrosants, etc. (tab. II).

Tableau II.- Effets probables des principales mycotoxines sur l'homme [8].

| | |
|---------------------------------|--|
| Aflatoxine B₁ | Cancérogène: cancer du foie (hépatocarcinome) et des voies biliaires, cancer broncho-pulmonaire et bronchonique. Mutagène: anomalie de la synthèse des enzymes de réparation de l'ADN. |
| Ochratoxine A (OTA) | Cancérogène: cancer du rein. Mutagène: anomalie de la synthèse des enzymes de réparation de l'ADN Immunosuppresseur Néphrotoxique: Néphropathie endémique (Balkans), néphropathie interstitielle chronique. |
| Patuline | Immunosuppresseur: diminution du nombre de lymphocytes du sang (lymphopénie) si intoxication chronique. Neurotoxique: troubles nerveux (action anti acétylcholinestérase). |
| Fumonisines | Cancérogène: association avec des cancers de l'œsophage. |
| Trichotécènes | Mutagène: anomalie de la synthèse des enzymes de réparation de l'ADN (toxine T ₂). Immunodépresseur: altération de la phagocytose, inhibition de la synthèse protéique (Toxine T2 et désoxynivalénole). Respiratoire: pneumopathie interstitielle. |
| Zéaralénone | Oestrogénique: puberté précoce et gynécomastie. |

Les mycotoxines se retrouvent dans le mycélium et les conidies (spores) mais surtout diffusent dans le substrat qu'elles contaminent même après la destruction du champignon responsable de leur production.

Pour la plupart, elles sont fortement absorbées ou fixées au niveau de la paroi des conidies (comme les aflatoxines). D'autres sont uniquement excrétées dans le milieu extérieur (comme la gliotoxine). Elles peuvent être présentes alors que l'agent responsable (producteur) a disparu, soit du fait de l'évolution de la flore soit du fait des traitements technologiques.

2.2.- Champignons producteurs de mycotoxines

Les champignons formant un règne à part entière: le règne des Fungi ou des Eumycota. Ce sont des micro-organismes eucaryotes, généralement filamenteux, saprophytes ou parasites, hétérotrophes dépendant d'une source de carbone organique. La colonie fongique est constituée d'un réseau d'hyphes appelé mycélium. Ils produisent un grand nombre de spores leur assurant un pouvoir de contamination considérable. Elles sont susceptibles d'être présentes dans le sol (habitat primaire), l'air atmosphérique, l'eau et notamment sur une large gamme d'aliments variés, végétaux ou animaux, les céréales (maïs, riz, orge, blé, etc.) et leurs produits dérivés, les lentilles, le tournesol, le soja, les fruits frais ou secs, les arachides, les amandes, les noix, les pistaches, le café, les graines de coton, les épices (poivre, paprika, gingembre, etc.), les jus de fruits, le cidre, les pâtures, les aliments de bétail et de volailles, les ensilages et les fourrages, lait et ses dérivés,

viande, etc. (tab. I).

En effet, les moisissures ont deux facettes:

- les unes bénéfiques ou utiles (fig. 1) dans la transformation de matières premières alimentaires (en particulier lors de la fermentation), production d'antibiotiques, d'enzymes, de condiments, d'agents de saveurs, de protéines pouvant être utiles à la santé humaine (industrie pharmaceutique, agro-alimentaire, biotechnologie, etc.). Cependant une souche utilisée par l'industrie alimentaire n'est pas forcément atoxique et peut devenir toxigène dans certains milieux.



Figure 1.- Différentes utilisations des moisissures.

- les autres nuisibles pour l'homme et les animaux qui provoquent l'altération des denrées alimentaires, production de métabolites toxiques (mycotoxines), mycoses et allergies.

On peut ainsi différencier principalement 2 types de moisissures:

- Les moisissures hygrophiles ou de «champs» sont des champignons qui se développent lorsque l'activité de l'eau est importante. Principalement *Fusarium* spp. et *Alternaria* spp. qui contaminent les produits agricoles avant et pendant la récolte. Récemment, des données montrent également que *Pyrenophora tritici-repentis* (agent causal de la tache auréolée du blé) est un champignon phytopathogène et mycotoxinogène hygrophile [9].
- Les moisissures xérotolérantes ou «de stockage» qui sont les plus redoutables font partie des *Aspergillus* spp. et les *Penicillium* spp. (fig. 2).

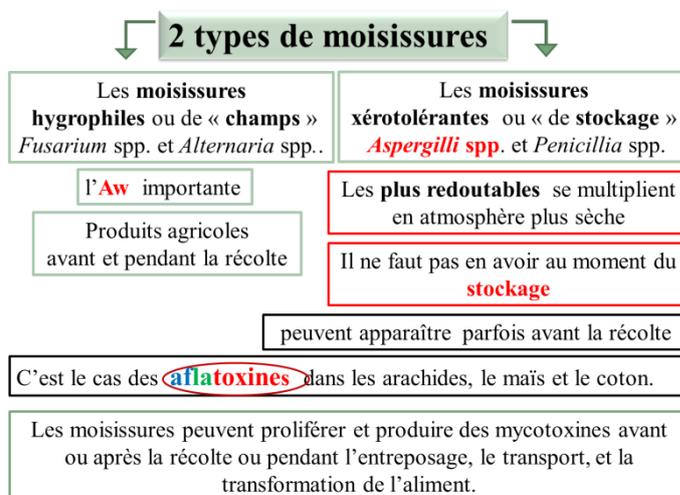


Figure 2.- Propriétés des moisissures toxigènes.

- On peut citer également un troisième type qui est rare, appartenant aux moisissures xérophiles, et qui se développe lorsque le grain est moins humide.

Il est à préciser que plusieurs chercheurs ont signalé la production de mycotoxines par quelques espèces de certains genres fongiques comme *Acremonium*, *Alternaria*, *Bipolaris*, *Byssochlamys* (*Paecilomyces*), *Chaetomium*, *Chrysosporium*, *Cladosporium*, *Claviceps*, *Cochliobolus*, *Cylindrocarpon*, *Gliocladium*, *Helminthosporium*, *Monascus*, *Mortierella*, *Mucor*, *Myrothecium*, *Neotyphodium*, *Phomopsis*, *Pithomyces*, *Pyrenophora*, *Stachybotrys*, *Stagonospora*, *Trichoderma*, *Trichothecium* et *Verticimonosporium* [10,11,12,13,14].

3.- Colonisation des denrées alimentaires

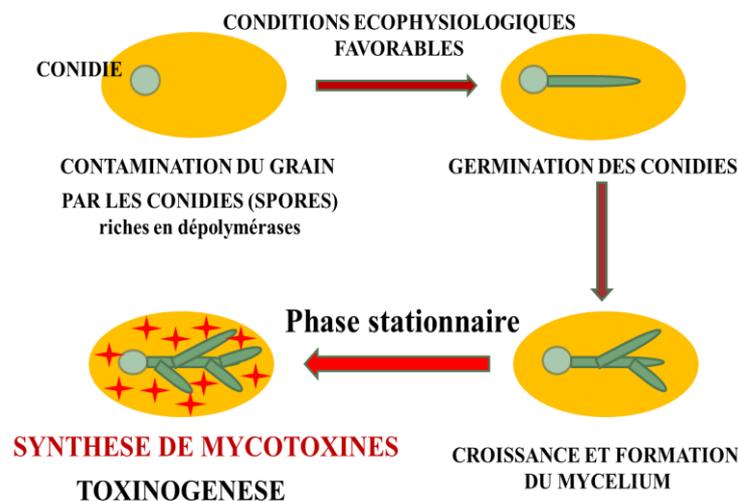


Figure 3.- Colonisation d'une denrée alimentaire

En atmosphère non contrôlée, la contamination fongique, est un risque permanent et pratiquement inévitable. La contamination fongique des plantes et la synthèse de toxines dépendent d'un certain nombre de conditions environnementales : l'état sanitaire de la plante précédant une récolte, conditions météorologiques (pluies, turbulences atmosphériques, etc.), techniques de récolte, délais et conditions hydro-thermiques avant la stabilisation pour une bonne conservation. Les animaux, surtout les insectes et les acariens, sont secondairement les facteurs de dispersion des conidies.

Pour croître et se multiplier, la moisissure doit puiser dans le milieu des matières organiques structurales et énergétiques (fig. 3).

La cellule fongique est particulièrement riche en dépolymérase. Sous l'action de ces enzymes excrétées dans l'environnement des polymères complexes comme la cellulose, la lignine et les composés pectiques peuvent être "digérés" par de nombreux champignons. Le saprophytisme de ces micromycètes et par conséquent leur croissance ne peuvent être mis en œuvre que si le milieu renferme de l'eau libre.

Arsenal enzymatique puissant et varié, tolérance à des pH acides, à des teneurs en eau très faible, et à des taux d'oxygène bas, croissance de 3°C à 40°C, expliquent que les

moisissures puissent coloniser pratiquement tous les aliments. En raison de la croissance strictement apicale et de la ramification subapicale des hyphes, la colonie fongique, contrairement à la colonie bactérienne, ne reste pas localisée au site contaminé. Les hyphes avancent continuellement sur et dans le substrat vers des régions nutritives neuves, occupant grâce aux hyphes mycéliennes latérales toute la surface comestible.

4.- Facteurs favorisant la mycotoxinogénèse

4.1.- Facteurs intrinsèques (liés à la souche fongique elle-même)

La nature et la qualité des mycotoxines dépendent des espèces qui les synthétisent. Elles diffèrent selon leur caractère génétique et leur milieu écologique [8].

Au sein d'une même espèce réputée toxigène, toutes les souches n'ont pas cette propriété. La fréquence des souches toxigènes dépend de l'espèce fongique considérée et pour une même espèce, parfois de la région et de la nature du substrat d'origine. Certaines mycotoxines peuvent être élaborées par plusieurs espèces appartenant à des genres différents. Nombreuses souches fongiques peuvent sécréter plusieurs mycotoxines. La présence à un moment donné d'une moisissure toxigène est nécessaire pour qu'il y ait éventuellement production de mycotoxines. L'existence d'une moisissure même toxigène n'implique pas obligatoirement la présence de mycotoxines et l'absence de moisissures n'implique pas obligatoirement la perte de mycotoxines (fig. 4).

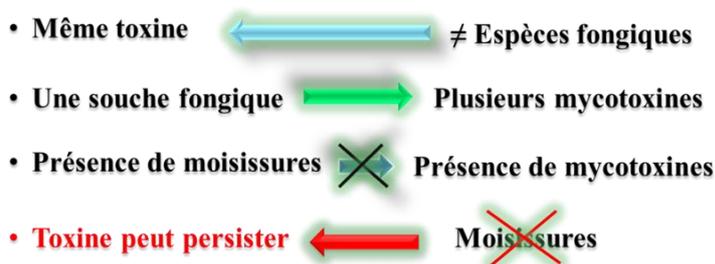


Figure 4.- Mycotoxinogénèse et moisissures

4.2.- Facteurs extrinsèques (ensemble des conditions écologiques)

Ils sont physiques, physico-chimiques et chimiques. Les facteurs qui contribuent au premier chef à la biodétérioration c'est-à-dire multiples modifications biochimiques et organoleptiques d'un écosystème sont la température, le pH, l'humidité et les ravageurs (fig. 5).

Température

Les champignons sont généralement mésophiles. Leur croissance hyphale est optimale entre 20 et 25°C, elle est souvent faible à 5 et 35°C. Les conidies des espèces mésophiles ne germent pas en dessous de 5°C mais restent viables très longtemps, et des températures inférieures à -20°C ne tuent pas les conidies.

Nombreuses moisissures nuisibles notamment *Penicillium expansum*, *P. verrucosum*, *P. viridicatum* sont psychrotrophes. Elles peuvent se développer lentement à des températures inférieures à 4°C. Ces champignons sont fréquemment impliqués dans

l'altération d'aliments conservés au froid. Les carcasses de viandes fraîches stockées trop longtemps en chambre froide sont recouvertes de colonies fongiques polychromes parmi lesquelles *Cladosporium herbarum* est l'espèce prédominante [15].

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 ($\text{pH} < 6$) de nombreux aliments tels que les légumes, les fruits et la viande sont beaucoup plus exposés à une altération fongique que bactérienne.

Tension d'oxygène

Sans exception, les moisissures ont besoin d'oxygène pour une croissance normale. Mais pour beaucoup d'entre elles, le développement n'est pas ou peu affecté par des teneurs 10 fois plus faibles (2,1%) que celles de l'atmosphère. *Byssochlamys fulva* et *B. nivea* peuvent même pousser avec 0,27% d'oxygène. Les denrées conditionnées sous faible tension d'oxygène ne sont donc pas à l'abri des moisissures.

Disponibilité en eau

L'humidité favorise le développement des moisissures. Pour son maintien le mycélium doit trouver de l'eau libre (disponible) pour poursuivre sa croissance. Dans les graines, les moisissures utilisent la vapeur d'eau présente dans les interstices entre les grains dont la concentration est déterminée par l'équilibre entre l'eau libre contenue dans le grain (la teneur en eau du grain) et l'eau présente sous forme de vapeur autour du grain. La concentration de l'eau interstitielle est désignée par l'activité de l'eau (aw). Sans eau libre il ne peut y avoir diffusion des exo-enzymes fongiques dans l'environnement jusqu'au substrat; ensuite, après la dépolymérisation du substrat, il peut y avoir diffusion des molécules simples à l'intérieur de la cellule fongique. Ce paramètre peut varier de 0 (pour des substrats dans lesquels toute l'eau est retenue) à 1 (pour des substrats dont toute l'eau est disponible). Les valeurs caractéristiques de ce facteur permettant le développement des moisissures s'échelonnent de 0,70 à 0,99. Les activités en eau inférieures à 0,60 ne sont pas compatibles avec la croissance fongique mais elles ne tuent pas les conidies. Le chocolat, les épices, les aliments déshydratés (ou peu hydratés), les laits en poudre protégés de la réhydratation sont théoriquement à l'abri d'une altération fongique.

Substrat

La composition qualitative et quantitative du substrat peut influencer l'expression du pouvoir de sécrétion des toxines [16]. 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. L'effet du fer et du cuivre peut être dû à leur rôle de catalyseurs de la peroxydation des lipides [17].

Les progrès de la chimiotaxonomie ont permis de démontrer que pour une même espèce les profils des substances produites sont différents si on prélève le champignon sur le substrat naturel ou à partir d'une culture en boîte de Petri. L'exemple le plus parlant concerne *Penicillium roqueforti*, incapable de produire une toxine (roquefortine) sur le fromage de Roquefort, alors qu'*in vitro* il est en mesure de sécréter un métabolite très toxique. Cependant, le profil métabolique est différent si on utilise un milieu de culture complexe (naturel) ou défini (chimique) [18].

Facteurs biologiques

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 [19]. Les oiseaux et les rongeurs agissent de manière similaire sur des réserves de céréales non protégées [20].

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 lorsqu'*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.

Facteurs chimiques

L'emploi d'insecticides réduit l'apparition des mycotoxines, soit par action antifongique directe sur le champignon, soit en prévenant les lésions au niveau des graines dues aux insectes et aux acariens. Il convient toutefois d'être prudent dans l'emploi de ces substances. En effet, certaines études ont montré qu'à concentration sub-létale, la production des mycotoxines est favorisée [20]. Des essais *in vivo* sur vignoble montrent l'efficacité des molécules actives, comme le "Switch" (fludioxonil et cyprodinil), contre le développement des genres *Aspergillus* et *Penicillium*. Le "Mikal" (fosétyl-Aluminium et folpet) est le seul antifongique qui soit associé avec des teneurs en ochratoxine A (OTA) les plus faibles dans les moûts et les vins [21]. BOURAS *et al.* (2003) ont montré que le nombre total d'isolats fongiques a augmenté avec l'utilisation de "Mikal" mais ce nombre a diminué avec "Switch", par comparaison au témoin [22]. ¶ De la même manière, le nombre d'isolats ochratoxinogènes a diminué avec "Switch", par comparaison au témoin non traité. ¶ ¶ En revanche, l'utilisation de "Mikal" n'a pas diminué le nombre d'isolats producteurs d'OTA [22].

Des concentrations de 6 à 8 ppm du fongicide systémique tridémorphe favorisent la croissance de *Fusarium sporotrichoides* et diminuent la synthèse de la toxine T-2. En revanche, des concentrations de 30 à 50 ppm inhibent fortement la croissance du champignon et augmentent considérablement la production de la toxine [23].

L'exposition des black *Aspergilli* à certaines concentrations en fongicide constitue un agent de stress pour ces champignons, et en réponse, ils se mettent à produire plus d'OTA. Ainsi, la production de mycotoxines peut protéger les champignons producteurs d'un agent de stress [24]. De la même manière, la citrinine est un agent de protection solaire pour *Penicillium verrucosum* [25]. Il ne faut pas négliger non plus l'intervention d'autres facteurs (climatiques, culturels) pour expliquer l'effet non attendu de ces fongicides.

Il reste tout de même à garder à l'esprit que l'espèce *Aspergillus carbonarius* par exemple est décrite comme étant un champignon agressif [26] qui n'a besoin d'aucun facteur extérieur pour coloniser les baies de raisin saines et pour y produire de l'OTA.

Paramètres de croissance et de toxinogénèse

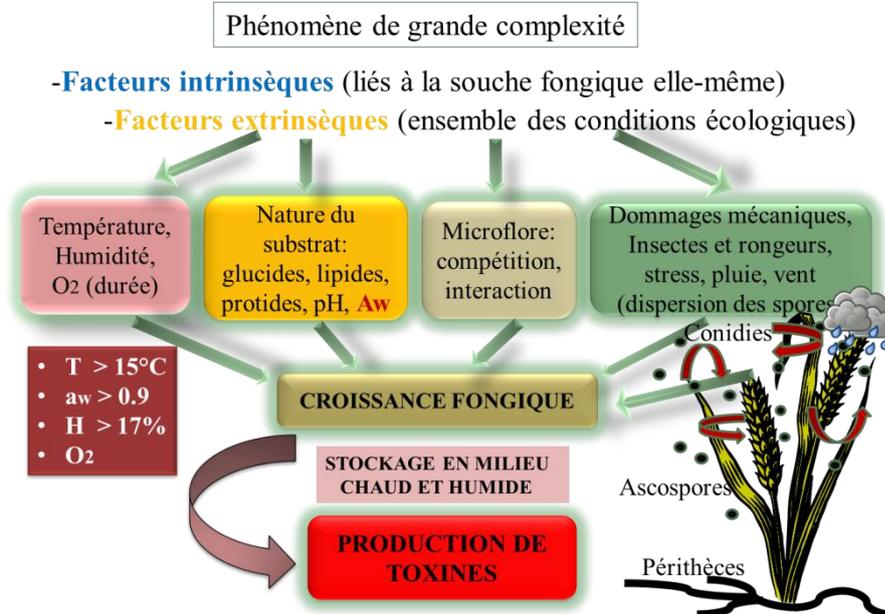


Figure 5.- Les paramètres responsables de la mycotoxinogénèse [27]

5.- Mycotoxines dans la chaîne alimentaire: la biogénèse

Bien souvent les matières premières et les aliments finis subissent des traitements technologiques qui rendent indétectables cette contamination fongique, tout en laissant intact les mycotoxines éventuellement présentes. Le métabolisme secondaire peut être en revanche spécifique d'une espèce, voire d'une souche fongique et de ses caractéristiques génétiques et répond généralement à des signaux issus de l'environnement du champignon [2]. 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.

6.- Principales mycotoxines recherchées en contrôle alimentaire

L'entrée des mycotoxines dans la chaîne alimentaire de l'homme s'effectue soit par des denrées consommées directement ou indirectement (fig. 6).

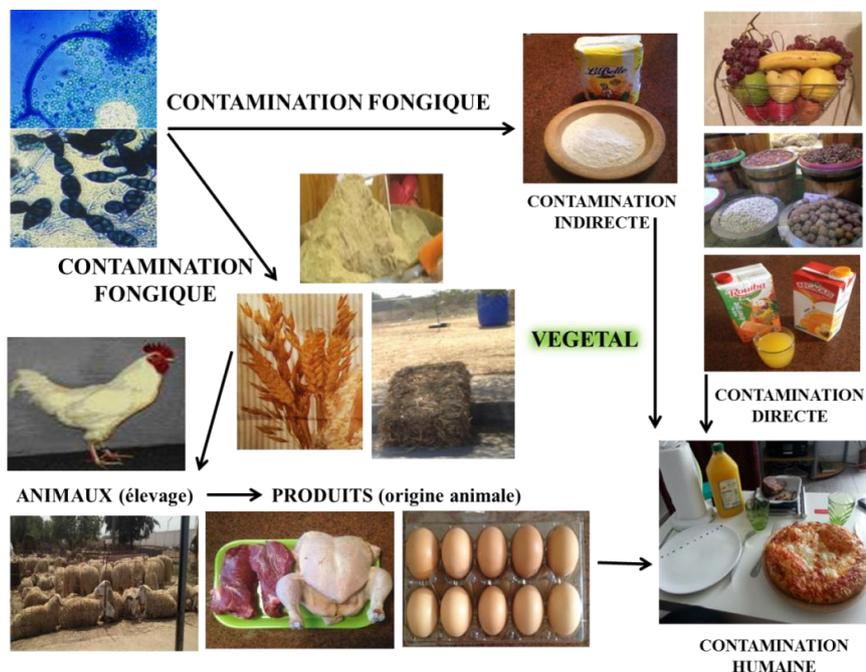


Figure 6.- Les mycotoxines tout au long de la chaîne, depuis le champ jusqu'à l'assiette du consommateur ou la mangeoire

Uniquement six groupes sont les plus surveillés et considérés comme des contaminants majeurs des aliments: l'aflatoxine, l'ochratoxine A, les fumonisines, les tricothécènes, la zéaralénone et la patuline. Les procédés de conservation (stérilisation, pasteurisation, lyophilisation, séchage, salage, congélation, etc.) peuvent agir sur les moisissures mais ne détruisent pas ou très peu la plupart des mycotoxines (fig. 7).

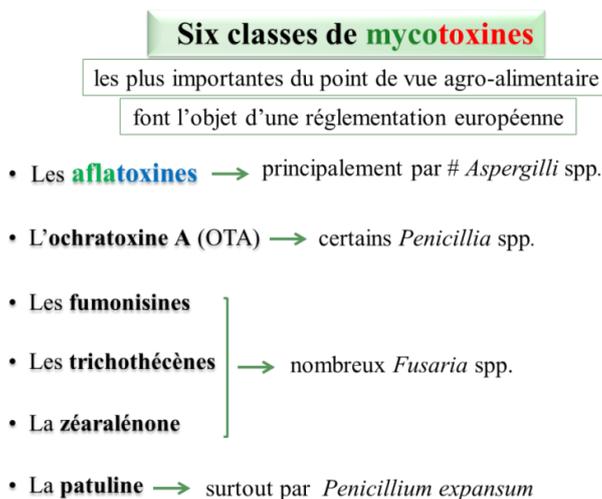


Figure 7.- Les principales mycotoxines incriminées en agro-alimentaire

7.- Détection et quantification des mycotoxines

Dans les aliments "homogènes" comme le lait, les huiles, le beurre, les jus de fruits, les farines, les techniques physico-chimiques d'analyses peuvent facilement détecter des quantités de mycotoxines de l'ordre du ng/g (ppb) et même du 1/10 de ng/g pour les aflatoxines. Pour les grains de céréales et les graines d'oléagineux, l'hétérogénéité de la répartition des toxines au sein d'un lot contaminé pose un problème d'échantillonnage. De ce fait, la fiabilité des analyses et la reproductibilité des résultats imposent de gros échantillons de l'ordre de 1 à 5 kg de matières premières. Après broyage et homogénéisation de l'échantillon 50 g, en général, sont prélevés pour analyse [28].

Comme la plupart des mycotoxines ne sont pas volatiles, la chromatographie en phase gazeuse est souvent d'application difficile. Elle est cependant conseillée pour les trichothécènes qui n'ont pas de fluorescence naturelle et qui posent donc des problèmes en TLC (chromatographie en couche mince) et HPLC (chromatographie liquide à haute performance).

Dans les laboratoires spécialisés, l'HPLC et l'HPLC couplée à la spectrométrie de masse (LC-M) plus sensibles et plus précises que la TLC sont de plus en plus utilisées. Depuis la préparation d'anticorps antimycotoxines obtenus grâce au couplage de la toxine à une molécule antigénique comme le sérum albumine bovine, deux principales méthodes immunochimiques se sont développées: la méthode RIA (*Radio Immuno assay*) utilisatrice d'un marquage radioactif, et la méthode ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) utilisatrice d'un marquage enzymatique [29].

Aujourd'hui, la production d'anticorps monoclonaux anti-aflatoxines B₁ et M₁, anti-zéaralénone, anti-déoxynivalenol (anti-DON), anti-T₂ toxine et anti-ochratoxine A, garantit la très haute spécificité de ces méthodes [28].

La méthode ELISA, rapide (moins de 30 minutes), bon marché (2,5 à 6% moins chère que les techniques physico-chimiques), spécifique et sensible (détection de taux d'aflatoxines de l'ordre de 0,1-13 ng/g) supplante progressivement la méthode RIA "plus dangereuse". Elle permet d'envisager un dépistage et une quantification systématique et précoce des principales mycotoxines dans les aliments [29].

Les nombreux kits de détection (ensembles de pièces nécessaires pour un usage donné) commercialisés pour l'aflatoxine B₁ et ceux bientôt commercialisables pour l'aflatoxine M₁, le DON, la zéaralénone et la toxine T₂.

8.- 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 réglementation 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.

9.- Lutte contre la présence des mycotoxines dans l'alimentation

La lutte contre la présence des mycotoxines dans l'alimentation passe d'abord par la mise en œuvre de tous les moyens visant à empêcher la colonisation des denrées par les champignons. Le meilleur moyen de prévenir l'installation des moisissures nuisibles sur les denrées est d'empêcher la contamination des produits par les conidies.

Aujourd'hui, l'industrie agro-alimentaire a une ambition raisonnable mais souvent onéreuse; la technologie moderne (filtration, stérilisation de l'air, secteurs en surpression, désinfection des atmosphères et des surfaces, etc.) permet de "produire" des aliments en conditions aseptiques.

Actuellement, en agriculture vouloir empêcher la contamination fongique relève de l'impossible, mais il est essentiel d'éviter une surinfection des graines et des fruits par des contacts avec le sol et du matériel souillé. En plus, ces contacts sont générateurs de blessures qui favoriseront ensuite la pénétration des hyphes dans le végétal.

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.

Des produits d'activité en eau faible, c'est-à-dire inférieurs à 0,70, théoriquement "impropres" au développement fongique ne seront réellement à l'abri des moisissures que si leur activité en eau est en tout point, spécialement en surface, constamment < à 0,70. Ceci revient à dire que lors du stockage, l'humidité atmosphérique relative des locaux doit rester rigoureusement égale à celle du produit stocké et si possible inférieure ou égale à 70%: une augmentation de l'humidité de l'air conduit à une augmentation de l'activité en eau en surface du produit.

En ce qui concerne le froid comme moyen de protection contre les attaques fongiques, seules les congélations à des températures inférieures ou égales à -20°C garantissent un effet fongistatique. Il faut souligner que des températures plus basses par exemple -80°C n'ont pas d'effet stérilisant; la congélation pour les conidies comme pour les virus, les bactéries et les aliments est un procédé de conservation.

Les substances antifongiques lorsque leur utilisation est autorisée, comme c'est le cas pour le traitement des cultures, doivent être choisies en fonction des espèces fongiques à éliminer et appliquées en respectant les doses. En effet, la plupart des antifongiques sont des poisons non seulement de la cellule fongique mais aussi des cellules animales et végétales.

En alimentation humaine, l'utilisation des additifs antifongiques (propionate, sorbate de calcium, natamycine, etc.) n'est autorisée que pour les emballages. Les antifongiques comme le bénomyl, l'éthoxyquine, la diphénylamine et le thiabendazole ne

sont applicables sur les fruits et légumes qu'après récolte.

L'emploi des radiations ionisantes sur des produits emballés donc protégés des recontaminations, l'emploi du phosphure d'hydrogène (PH₃) qui ne laisse aucun résidu, pourraient être des solutions d'avenir.

Lorsqu'une moisissure s'est développée sur une denrée, l'appréciation correcte du risque sanitaire impose une détermination exacte de l'espèce; c'est un travail de spécialiste. Bien que la présence d'une moisissure sur un aliment ne soit pas systématiquement associée à la présence de mycotoxines, les denrées "moisies" doivent être éliminées.

En résumé, afin de limiter le développement des champignons durant le stockage des denrées alimentaires, il faudrait:

- sécher rapidement les produits de récolte après la moisson;
- éviter l'endommagement des grains pendant la récolte, le transport, le battage et le séchage;
- maintenir l'entrepôt au frais et à sec;
- éviter la formation de l'eau de condensation (maintenir la température dans l'entrepôt toujours constante; si possible, ombrager l'entrepôt);
- éviter le développement d'une forte population d'insectes;
- sécher une nouvelle fois si la teneur en eau maximale admise est dépassée.

L'ajout de matières adsorbantes (ex: l'argile) et de charbon actif avec une certaine concentration (1%) réduit efficacement la quantité d'aflatoxines dans le lait [30,31].

Les stocks contaminés peuvent être réorientés vers d'autres utilisations que l'alimentation, ex: les céréales contaminées par des mycotoxines peuvent être utilisées pour la production d'éthanol.

Vers une approche stratégique et globale de lutte contre les mycotoxines: l'application de la méthode HACCP

L'HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point*) est une méthode connue et bien établie dans l'agro-alimentaire dont le but est d'assurer la production sans risques des aliments. L'HACCP ayant démontré son efficacité, la Commission Européenne encourage les projets visant à appliquer cette méthode de contrôle au problème des mycotoxines. Elle est en fait un plan logique de tous les contrôles à mettre en œuvre pour prévenir les aléas de sécurité alimentaire. Ce plan est spécifique au risque que l'on cherche à éviter. Il établit des contrôles réguliers et systématiques tout au long de la chaîne de production alimentaire. Il prévoit en outre les actions correctrices à mettre en œuvre si un risque est repéré à l'occasion d'un contrôle ou si un contrôle se révèle défaillant. Il s'agit avant tout d'anticiper le risque.

L'HACCP vise à prévenir trois types de risques: les risques biologiques (la présence de micro-organismes pathogènes), les risques chimiques (la présence dans le produit de résidus de pesticides) et les risques physiques (présence dans le produit de matériau qui ne devrait pas s'y trouver: fragments de verre ou de métal).

Conclusion

De nos jours, les mycotoxines posent un réel problème sanitaire à l'échelle mondiale. Les aflatoxines sont, sans aucun doute, responsables de cancer du foie chez l'homme. Par ailleurs, beaucoup de mycotoxines dont les trichothécènes et la zéaralénone, en raison de leur affinité pour les lipides, pourraient être la cause des effets délétères des graisses animales et de certaines huiles végétales.

En outre, la toxicité des mycotoxines pourrait être aggravée par une exposition concomitante de l'homme et de l'animal à d'autres poisons comme les pesticides modernes (organophosphorés par exemple) qui inhibent de nombreuses enzymes et notamment les enzymes capables de détoxifier certaines mycotoxines [32].

En Algérie, le manque de contrôles sanitaires, le mauvais conditionnement des aliments (lieux de stockage humides, chauds et mal aérés) ainsi que l'absence d'une réglementation stricte augmentent le risque de contamination par ces métabolites. La fréquence de contamination des aliments mis à la disposition du public et la teneur des aflatoxines deviennent une menace sérieuse si:

- d'une part une sensibilisation de la population n'est pas faite sur les méthodes de conservation qui permettent une inhibition de la croissance de ces moisissures.
- et d'autre part si la recherche et le développement ne coordonnent pas des approches stratégiques et globales de lutte contre les mycotoxines et des acteurs pluridisciplinaires (épidémiologistes végétaux, écologues microbiens, médecins, vétérinaires, généticiens, microbiologistes, responsables d'organismes partenaires importateurs ou grands fournisseurs du marché et agriculteurs), pour la mise en route des programmes "Contrôle et Assurance Qualité Alimentaire" dans notre pays.

En effet faute de disposer suffisamment de laboratoires de contrôle homologués, l'Algérie est entièrement tributaire du contrôle effectué dans les pays d'importation. Leurs marchandises souvent contaminées par les mycotoxines doivent être accompagnées de certificats sanitaires spécifiques et tous les lots importés sont l'objet d'un contrôle particulier. La mise aux normes nécessite donc la formation et l'intéressement des importateurs en général peu sensibilisés à la qualité sanitaire et suppose un équipement de contrôle au niveau des ports, un laboratoire de contrôle/certification agréé par des organisations de certification internationales (l'UE), la mise en place d'un plan de contrôle/qualité et l'adoption de textes législatifs et réglementaires permettant son bon fonctionnement. La lutte contre les toxines est complexe; il s'agit d'une profonde étude des pratiques de protection phytosanitaire au champ et au stockage; les pays producteurs doivent donc développer un arsenal de mesures préventives: achat à la qualité, utilisation de bonnes pratiques agricoles et multiplication de variétés résistantes par la génétique qui est une piste prometteuse pour l'avenir.

Références bibliographiques

- [1].- D'Mello J. P. F., Macdonald A. M. C., 1997.- Mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology*, 69: 155-166.
- [2].- Yiannikouris A., Jouany J. P., 2002.- Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review, *Anim. Res.*, INRA, EDP Sciences, 51: 81-99.

- [3].- Riba A., Mokrane S., Mathieu F., Lebrihi A., Sabaou N., 2008.- Mycoflora and ochratoxin A producing strains of *Aspergillus* in Algerian wheat. *International Journal of Food Microbiology*, 122: 85-92.
- [4].- Riba A., Bouras N., Mokrane S., Lebrihi A., Sabaou N., 2010.- *Aspergillus* section *Flavi* and aflatoxins in Algerian wheat and derived products. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2772-2777.
- [5].- Guezlane-Tebibel N., Bouras N., Mokrane S., Benayad T., Mathieu F., 2013.- Aflatoxigenic strains of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from marketed peanuts (*Arachis hypogaea*) in Algiers (Algeria). *Annals of Microbiology*, 63: 295-305.
- [6].- Eskola M., 2002.- Study on trichothecenes, zearalenone and ochratoxin A in Finnish cereals: Occurrence and analytical techniques. Academic dissertation, EELA Publications, Helsinki.
- [7].- Bennett J.W., Klich M., 2003.- Mycotoxins. *Clinical Microbiology Review*, 16: 497-516.
- [8].- Belkacem N., 2008.- Les mycotoxines: production et voie de biosynthèse. Master II. Institut national polytechnique de Toulouse. France. 23 pages.
- [9].- Bouras N., Kim Y-M., Strelkov S. E., 2009.- Influence of water activity and temperature on growth and mycotoxin production by isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* from wheat. *International Journal of Food Microbiology*, 131: 251-255.
- [10].- Abbott S. P., 2002.- Mycotoxins and indoor molds. *Indoor Environment Connections*, 3: 14-24.
- [11].- Arora D. K., 2004.- Fungal biotechnology in agricultural, food, and environmental applications. *Mycology Series*, vol. 21, Marcel Dekker Inc., New York, 475 pages.
- [12].- Bouras N., Strelkov S. E., 2008.- The anthraquinone catenarin is phytotoxic and produced in leaves and kernels infected by *Pyrenophora tritici-repentis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 72: 87-95.
- [13].- Bouras N., Holtz M. D., Aboukhaddour R., Strelkov.- Influence of nitrogen sources on growth and mycotoxin production by isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* from wheat. *The Crop Journal*, Sous Presse, doi: doi:10.1016/j.cj.2016.01.005.
- [14].- Wakuliński W., Kachlicki P., Sobiczewski P., Schollenberger M., Zamorski C. Z., Łotocka B., Šarova J., 2003.- Catenarin production by isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) *Drechsler* and its antimicrobial activity, *Journal of Phytopathology*, 151: 74-79.
- [15].- Pitt J.I., Hocking A.D., 1985 a.- *Fungi and Food Spoilage*, CSIRO Division of Food Research, Academic Press, Sidney.
- [16].- Reboux G., 2006.- Mycotoxines: effets sur la santé et interactions avec d'autres composants organiques. *Revue Française d'Allergologie*, 46: 208-212.

- [17].- Aziz N. H., El-Fouly M. Z., Abu-Shady M. R. & Moussa L. A. A., 1997. Effect of Gamma radiation on the Survival of Fungal and Actinomycetal Florae contaminating Medicinal Plants. *Appl. Radiat. Isot.*, 48 (1) : 71-76.
- [18].- Bouras N., Strelkov S. E., 2010.- Influence of carbon sources on growth and mycotoxin production by isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* from wheat. *Canadian Journal of Microbiology*, 56: 874-884.
- [19].- Murphy P. A., Hendrich S., Landgren C., Bryant C. M., 2006.- Food Mycotoxins: An Update, *Journal of Food Science*, 71: R51–R65.
- [20].- Le Bars J., 1988.- Toxicogenesis as a function of the ecological conditions of the grain: micro-organisms system. *In* "Preservation and storage of grains, seeds and their products". Multon J. L., Lavoisier pub, New York, USA: 347-366.
- [21].- ITV France, 2003.- Les entretiens viti-vinicoles Rhône. Méditerranée, 18-23.
- [22].- Bouras N., Mathieu F., Coppel Y., Strelkov S.E., Lebrihi A., 2007.- Occurrence of naphtho-gamma-pyrones- and ochratoxin A-producing fungi in French grapes and characterization of new naphtho-gamma-pyrone polyketide (aurasperone G) isolated from *Aspergillus niger* C-433. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 8920-8927.
- [23].- Moss M. O., Frank, J. M., 1985.- The Influence on mycotoxin production of interactions between fungi and their environment. *In* *Trychothecenes and other mycotoxins* (ed., Lacey J.), Chichester, John Wiley: 257-268..
- [24].- Jennings, D. H., 1993.- Understanding tolerance to stress: laboratory culture versus environmental actuality. *Mycology Series*, 10 (Stress Tolerance of Fungi). Marcel Dekker, New York: 1-11.
- [25].- Stormer, F. C., Sandven, P., Huitfeldt, H. S., Edward, W., Skogstad, A., 1998.- Does the mycotoxin citrinin function as a sun protectant in conidia from *Penicillium verrucosum*? *Mycopathologia*, 142: 43-47.
- [26].- Battilani P., Giorni P., A. Pietri, 2003.- Epidemiology of toxin producing fungi and ochratoxin A occurrence in grape. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 715-722.
- [27].- Galindo S., 2008.- Les mycotoxines. Etat des connaissances, réglementation. Le risque des mycotoxines. CIRAD. Sup Agro. Montpellier. 2-10.
- [28].- Scott P. M., 1989.- The natural occurrence of trichothecenes,. *In* *Trichothecene mycotoxicosis: pathophysiologic effects*, V.R. Beasley (Ed.). CRC Press, Boca Raton, Fla. (in press).
- [29].- Pestka J. J., Steinert B. W., Chu S. F., 1981.- Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of ochratoxin A, *Appl. Environ. Microbiol.*, 41, 1472.

- [30].- Galvano F., Galofaro V., Galvano G., 1996.- Occurrence and stability of aflatoxin M₁ in milk and milk products: A Worldwide Review. *Journal of Food Protection*, 59: 1079-1090.
- [31].- Diaz D. E., Hagler W. M., Hopkins B.A., Eve J. A., Whitlow L. W., 1999.- The potential for dietary sequestering agents to reduce the transmission of dietary aflatoxin to milk of dairy cows and to bind aflatoxin *in vitro*. *Journal of Dairy Science*, 82: 838-839.
- [32].- Schoendal R., White, A.F., 1965.- Aflatoxin and albinism in plants. *Nature (London)*. 205: 57-58.