

Évaluation des risques
liés à la présence
de **mycotoxines**
dans les **chaînes alimentaires**
humaine et animale

RAPPORT
SYNTHÉTIQUE



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale

Rapport synthétique

- Décembre 2006 -

■ **Coordination rédactionnelle**

Sophie Gallotti et Jean Marc Fremy

■ **Coordination éditoriale**

Carole Thomann

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) s'est saisie de l'évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans la chaîne alimentaire humaine et animale.

En 1998, le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF) avait rédigé un rapport qui faisait le point sur les mycotoxines. De nombreuses questions venant des industriels et des consommateurs mais également des scientifiques sont régulièrement soulevées sur la toxicité des mycotoxines. Si pour certaines de ces mycotoxines, les propriétés toxicologiques commencent à être bien connues, pour d'autres, leur impact toxicologique est contesté ou mal identifié.

L'objectif de cette autosaisine de l'Afssa est de procéder à une revue des connaissances et d'approfondir plus particulièrement certains aspects, notamment l'impact des mycotoxines sur l'alimentation et la santé animales.

Un groupe de travail inter-comités a été chargé de cette revue, focalisée sur les mycotoxines ayant un impact sur la santé humaine et/ou animale. En se fondant sur les données bibliographiques récentes et les dernières évaluations réalisées par différentes instances internationales, un rapport détaillé présente pour chaque mycotoxine les facteurs favorisant leur développement, leurs propriétés toxicologiques, les méthodes d'analyse, leurs effets sur la santé humaine et animale et le transfert dans les produits animaux, les données de contamination des denrées humaines et animales disponibles ainsi que l'exposition de l'homme au travers des denrées végétales, animales et des produits finis. Ce rapport inclura ultérieurement l'exposition des animaux au travers de leur alimentation et l'ensemble de la bibliographie analysée.

En accord avec les Comités d'experts spécialisés « Résidus et contaminants chimiques et physiques » et « Alimentation animale », il a été décidé de proposer une restitution de ce travail sur les mycotoxines en deux temps :

- ce rapport préliminaire synthétique présentant :
 - un état actualisé des connaissances sur chaque mycotoxines d'intérêt ;
 - des recommandations en termes de recherche destinées à améliorer nos connaissances sur les dangers de certaines de ces toxines et leur transfert dans les produits animaux ;
 - des recommandations, le cas échéant, sur le bien-fondé de mise en œuvre de plans de surveillance et/ou de contrôle et la mise au point de techniques analytiques plus sensibles ;
- un rapport détaillé, disponible dans le courant de l'année 2007, dans lequel sera, en outre, présentée une évaluation de l'exposition des animaux aux mycotoxines au travers de leur alimentation.

Composition du groupe de travail

- **Présidence :**

Pierre GALTIER Laboratoire Pharmacologie-Toxicologie INRA - Toulouse

- **Membres du Comité d'experts spécialisé « RÉSIDUS ET CONTAMINANTS CHIMIQUES ET PHYSIQUES »**

Sylviane DRAGACCI LERQAP- Unité Toxines polluants organiques et pesticides - AFSSA - Maisons-Alfort

Pierre GALTIER Laboratoire Pharmacologie-Toxicologie INRA - Toulouse

Françoise JANIN AFSSA - Maisons-Alfort

Bruno LE BIZEC LABERCA - Nantes

Jean-Charles LEBLANC PASER - DERNs - AFSSA - Maisons-Alfort

Isabelle OSWALD Laboratoire Pharmacologie-Toxicologie INRA - Toulouse

- **Membres du Comité d'experts spécialisé « ALIMENTATION ANIMALE »**

Christine BUREL Laboratoire d'Études et de Recherches Avicoles et Porcines AFSSA - Ploufragan

Michel ETIENNE UMR Systèmes d'élevage, nutrition animale et humaine INRA - Saint-Gilles

François GROSJEAN Arvalis Institut du Végétal - Paris

Jean-Pierre JOUANY Unité de recherche sur les herbivores INRA - Clermont-Ferrand

Bernard-Marie PARAGON École Nationale Vétérinaire - Maisons-Alfort

- **Membre du Comité d'experts spécialisé « ARÔMES, ADDITIFS ET AUXILIAIRES TECHNOLOGIQUES »**

Dominique PARENT-MASSIN Laboratoire de toxicologie alimentaire, Université de Bretagne occidentale - Brest

- **Membre du Comité d'experts spécialisé « MICROBIOLOGIE »**

Daniel THOUVENOT École supérieure de microbiologie et sécurité alimentaire - Brest

- **Autres experts**

Jean-Marc FREMY UERPC – DERNs - AFSSA - Maisons-Alfort

Philippe GUERRE École Nationale Vétérinaire - Toulouse

Virginie HOSSEN LERQAP- Unité Toxines polluants organiques et pesticides - AFSSA - Maisons-Alfort

- **Coordination scientifique**

Sophie GALLOTTI UERPC – DERNs - AFSSA - Maisons-Alfort

Anne MANACH UERPC – DERNs - AFSSA - Maisons-Alfort

JECFA : Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
SCF : Scientific Committee of Food (Comité scientifique européen de l'alimentation humaine)
AESA/EFSA : Autorité Européenne de Sécurité des Aliments/European Food Safety Authority
AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
CE : Commission Européenne

DHTP : Dose Hebdomadaire Tolérable provisoire
DJT : Dose Journalière Tolérable
DMT : Dose Maximale Tolérable
LOAEL : Dose minimale avec un effet nocif observé (Lowest observed adverse effect level)
NOAEL : Dose sans effet nocif observé (No observed adverse effect level)
NOEL : Dose sans effet observé (No observed effect level)
DL50 : Dose létale 50 : dose d'une substance qui entraîne la mort de 50 % des animaux

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer (acronyme anglais IARC)
Classement établi par le centre international de recherche sur le cancer (Préambule des monographies CIRC – 19 janvier 1999)

Groupe 1 : L'agent (le mélange) est cancérigène pour l'homme. Les circonstances d'exposition donnent lieu à des expositions qui sont cancérigènes pour l'homme.

Groupe 2A : L'agent (le mélange) est probablement cancérigène pour l'homme. Les circonstances d'exposition donnent lieu à des expositions qui sont probablement cancérigènes pour l'homme.

Groupe 2B : L'agent (le mélange) est peut-être cancérigène pour l'homme. Les circonstances d'exposition donnent lieu à des expositions qui sont peut-être cancérigènes pour l'homme.

Groupe 3 : L'agent (le mélange, les circonstances d'exposition) ne peut être classé quant à sa cancérigénicité pour l'homme (les études ne peuvent pas être interprétées en terme de présence ou d'absence d'effet cancérigène en raison de limites qualitatives ou quantitatives importantes, ou aucune donnée expérimentale de cancérigénicité n'est disponible).

Groupe 4 : L'agent (le mélange) n'est probablement pas cancérigène pour l'homme.

Aw : activité de l'eau

g : gramme

ng : nanogramme

µg : microgramme

p.c. : poids corporel

p.v. : poids vif

NEB : Néphropathie Endémique des Balkans (BEN en anglais)

ELISA : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

RIA : Radio Immuno Assay (dosage radio-immunologique)

CPG ou GC : chromatographie en phase gazeuse (Gaz chromatography)

SM ou MS : spectrométrie de masse (Mass spectrometry)

UV : ultra-violet

ECD : détecteur à capture d'électrons (electron capture detector)

CCM : chromatographie sur couche mince

CLHP ou LC : chromatographie liquide haute performance (Liquid chromatography)

LOQ : limite de quantification (limit of quantification)

LOD : limite de détection (limit of detection)

ADN : acide désoxyribonucléique

ARNt : acide ribonucléique de transfert

INTRODUCTION	9
LES AFLATOXINES	13
Propriétés physico-chimiques	13
Méthodes d'analyse	13
Facteurs influençant la teneur en aflatoxines dans les denrées	14
Effets chez l'homme	15
Devenir et propriétés toxicologiques	15
Valeurs toxicologiques de référence.....	16
Exposition de l'homme aux aflatoxines par voie alimentaire.....	16
Effets sur la santé animale et transfert dans les produits animaux.....	17
Réglementation	19
Données de contamination.....	20
Conclusion	21
LES OCHRATOXINES	23
Propriétés physico-chimiques	23
Méthodes d'analyse	24
Facteurs influençant la teneur en ochratoxine A dans les denrées.....	24
Effets chez l'homme.....	25
Devenir et propriétés toxicologiques	25
Valeurs toxicologiques de référence.....	26
Exposition de l'homme à l'ochratoxine A par voie alimentaire	27
Effets sur la santé animale et transfert dans les produits animaux.....	28
Réglementation	29
Données de contamination.....	29
Conclusion	30
LES TRICHOTÉCÈNES	31
Propriétés physico-chimiques	31
Méthodes d'analyse	32
Facteurs influençant la teneur en trichothécènes dans les denrées	33
Effets chez l'homme.....	34
Devenir et propriétés toxicologiques	34
Valeurs toxicologiques de référence.....	35
Exposition de l'homme aux trichothécènes par voie alimentaire.....	36
Effets sur la santé animale et transfert dans les produits animaux.....	37
Réglementation	40
Données de contamination.....	40
Conclusion	41
LA ZÉARALÉNONE	43
Propriétés physico-chimiques	43
Méthodes d'analyse	43
Facteurs influençant la teneur en zéaralénone dans les denrées	44
Effets chez l'homme.....	44
Devenir et propriétés toxicologiques	44
Valeurs toxicologiques de référence.....	45
Exposition de l'homme à la zéaralénone par voie alimentaire.....	46
Effets sur la santé animale et transfert dans les produits animaux.....	47
Réglementation	49
Données de contamination.....	50
Conclusion	50

LES FUMONISINES	51
Propriétés physico-chimiques	51
Méthodes d'analyse	51
Facteurs influençant la teneur en fumonisines dans les denrées	52
Effets chez l'homme	52
Devenir et propriétés toxicologiques	52
Valeurs toxicologiques de référence	53
Exposition de l'homme aux fumonisines par voie alimentaire	53
Effets sur la santé animale et transfert dans les produits animaux	54
Réglementation	55
Données de contamination	55
Conclusion	56
LA PATULINE	57
Propriétés physico-chimiques	57
Méthodes d'analyse	57
Facteurs influençant la teneur en patuline dans les denrées	57
Effets chez l'homme	58
Devenir et propriétés toxicologiques	58
Valeurs toxicologiques de référence	59
Exposition de l'homme à la patuline par voie alimentaire	59
Effets sur la santé animale et transfert dans les produits animaux	60
Réglementation	60
Données de contamination	60
Conclusion	61
LES AUTRES MYCOTOXINES	63
les toxines de <i>Claviceps purpurea</i>	64
La citrinine	65
Les toxines d' <i>Alternaria</i>	66
L'acide cyclopiazonique	67
Les toxines trémorgènes d' <i>Aspergillus</i> et de <i>Penicillium</i>	68
Les sporidesmines	69
Les stachybotryotoxines	70
Les toxines d'endophytes	71
Les phomopsines	73
CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS	75

Introduction

Les mycotoxines sont des produits du métabolisme secondaire de moisissures pouvant se développer sur la plante au champ ou en cours de stockage et douées de potentialités toxiques à l'égard de l'homme et des animaux. Plus de 300 métabolites secondaires ont été identifiés mais seuls une trentaine possèdent de réelles propriétés toxiques préoccupantes. Ces toxines se retrouvent à l'état de contaminants naturels de nombreuses denrées d'origine végétale, notamment les céréales mais aussi les fruits, noix, amandes, grains, fourrages ainsi que les aliments composés et manufacturés issus de ces filières destinés à l'alimentation humaine et animale.

Les mycotoxines sont produites par des moisissures appartenant notamment aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (tableau 1).

Tableau 1 : mycotoxines et moisissures productrices associées retrouvées en alimentation humaine et/ou animale.

	Mycotoxines	Principales moisissures productrices
Mycotoxines réglementées ou en cours de réglementation	Aflatoxines B1, B2, G1, G2	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i>
	Ochratoxine A	<i>Penicillium verrucosum</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Aspergillus carbonarius</i>
	Patuline	<i>Penicillium expansum</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> <i>Byssoschlamys nivea</i>
	Fumonisines B1, B2, B3	<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i>
	Trichothécènes (DON)	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> <i>F. crookwellense</i> , <i>F. sporotrichioides</i> <i>F. poae</i> , <i>F. tricinctum</i> , <i>F. acuminatum</i>
	Zéaralène	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> <i>F. crookwellense</i> .
	Alcaloïdes d'ergot (dit ergot du seigle)	<i>Claviceps purpurea</i> , <i>C. paspali</i> , <i>C. africana</i>
Autres mycotoxines	Citrinine	<i>Aspergillus terreus</i> , <i>A. carneus</i> , <i>A. niveus</i> <i>Penicillium verrucosum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. expansum</i>
	Toxines d' <i>Alternaria</i> (alternariol, alternariol méthyl éther...)	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Alternaria solani</i>
	Acide cyclopiazonique	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. tamarii</i> <i>Penicillium</i> dont <i>P. camemberti</i>
	Stérigmatocystine	<i>Aspergillus nidulans</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. flavus</i>
	Sporidesmines	<i>Pithomyces chartarum</i>
	Stachybotryotoxines	<i>Stachybotrys chartarum</i>
	Toxines d'endophytes (ergovaline, lolitrème B)	<i>Neotyphodium coenophialum</i> , <i>N. lolii</i>
	Phomopsines	<i>Phomopsis leptostromiformis</i>
Toxines trémorgènes	<i>Penicillium roquefortii</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>P. puberulum</i> <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>A. fumigatus</i>	

Les moisissures toxigènes

Deux groupes de champignons (ou moisissures) toxigènes (producteurs de mycotoxines) peuvent être distingués. Le premier type est constitué de champignons envahissant leur substrat et produisant la mycotoxine sur plantes sénescentes ou stressées : il sera question de toxines de champs. L'autre groupe rassemble ceux qui produisent les toxines après récolte ; on les qualifiera de toxines de stockage. Ainsi, des champignons du sol ou des débris de plantes peuvent disséminer leurs spores sur la plante ou les grains puis proliférer pendant le stockage si les conditions le permettent.

Des moisissures toxigènes peuvent se développer sous tous les climats, sur tous les supports solides ou liquides dès l'instant qu'il y a des éléments nutritifs, de l'humidité (activité en eau Aw supérieure à 0,6), d'où la grande variété des substrats alimentaires contaminés. Les aliments contaminés par les mycotoxines peuvent être classés en deux grands groupes : les aliments et produits d'origine végétale, et ceux d'origine animale. Parmi les produits et aliments d'origine végétale, les céréales et leurs produits dérivés présentent le plus grand facteur de risque compte tenu de la fréquence de contamination et de leur consommation importante en Europe quel que soit le régime alimentaire. Les autres produits d'origine végétale sont les fruits et légumes secs (graines oléagineuses, haricots et raisins secs), les épices, le café et le cacao et les jus et produits de fermentation (jus de pomme, de raisin, bière, vin et cidre). Parmi les produits et aliments d'origine animale, le lait, les œufs, les viandes, les abats et tout ce qui en dérive doivent retenir l'attention.

Certaines moisissures sont utilisées dans l'élaboration de condiments ou d'aliments comme les fromages et les salaisons et, de ce fait, doivent répondre à des critères stricts de sécurité. Plusieurs espèces fongiques sont utilisées depuis des siècles pour la préparation d'aliments en Occident et en Extrême-orient. De nouvelles utilisations de micromycètes sont freinées par la crainte de présence de mycotoxines. Autrefois sélectionnées sur la base de l'absence de toxicité observable, elles sont aujourd'hui passées par le crible des méthodes de toxicogénomique pour détecter des gènes de toxigenèse.

Les mycotoxines

Les mycotoxines peuvent être classées en polycétoacides, terpènes, cyclopeptides et métabolites azotés selon leur origine biologique et leur structure. On peut aussi classer les mycotoxines plus simplement selon leurs principaux effets toxiques. On distingue parmi les groupes de mycotoxines considérées comme importantes du point de vue agro-alimentaire et sanitaire les aflatoxines, les ochratoxines et l'ochratoxine A en particulier, la patuline, les fumonisines, la zéaralène et les trichothécènes et tout spécialement le déoxynivaléno. Il convient de remarquer que dans un groupe structural de toxines, la toxicité peut varier considérablement d'une toxine à une autre et que le danger n'est pas toujours lié à la toxine elle-même, mais peut aussi venir de ses métabolites et de l'effet de synergie possible en cas de multicontamination.

Les mycotoxines et le risque pour le consommateur

La toxicité de ces contaminants naturels peut être directe ou indirecte vis à vis des organismes consommant des denrées alimentaires contaminées.

Certaines mycotoxines ont une toxicité aiguë très marquée (exposition unique à une forte dose), mais il est exceptionnel en Europe d'être exposé à des doses toxiques en une seule ingestion d'aliments contaminés.

Historiquement, la mycotoxicose la plus anciennement connue est l'ergotisme. Il s'agit d'une pathologie également appelée « feu de Saint-Antoine », « feu sacré » ou « mal des ardents ». Elle est provoquée par les toxines de *Claviceps* élaborées par l'ergot de seigle et se présentait sous la forme de délires, prostrations, douleurs violentes, abcès, gangrènes des extrémités aboutissant à des infirmités graves et incurables. Des épidémies ont sévi du 8^e au 16^e siècle en raison des conditions d'alimentation misérables des populations, en particulier la consommation de farines contaminées par les sclérotés de ces champignons. En France, le dernier épisode s'est produit en 1951 à Pont Saint-Esprit, dans le Gard.

Les effets chroniques (exposition répétée à de faibles voire très faibles doses) sont les plus redoutés en raison des habitudes alimentaires et du pouvoir de rémanence de ces toxines.

La toxicité est variable (tableau 2). Certaines toxines exercent un pouvoir hépatotoxique (aflatoxines), d'autres se révèlent œstrogéniques (zéaralène), immuno/hématotoxiques (patuline, trichothécènes, fumonisines), dermonécrosantes (trichothécènes), néphrotoxiques (ochratoxine A) ou neurotoxiques (toxines trémorgènes). Certaines mycotoxines sont reconnues ou suspectées d'être cancérigènes. En outre, plusieurs mycotoxines peuvent être présentes dans le même produit ou la même ration alimentaire.

Tableau 2 : Effets identifiés ou suspectés des principales mycotoxines et mécanismes d'action cellulaires et moléculaires identifiés expérimentalement.

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 cytochromes P450 Conjugaison aux GS-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 (Toxine T-2, DON, ...)	Hématotoxicité Immunomodulation Toxicité cutanée	Induction de l'apoptose sur progéniteur hématopoïétique et cellules immunitaires Impact sur la synthèse des protéines Altération des immunoglobulines
Zéaralène	Fertilité et Reproduction	Liaison aux récepteurs œstrogéniques Bioactivation par des réductases 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

Pour les consommateurs humains, un autre type de risque est indirect car induit par la présence possible de résidus dans les productions issues des animaux de rente exposés à une alimentation contaminée par les mycotoxines.

Ces résidus correspondent à la toxine elle-même et/ou à des métabolites bioformés conservant les propriétés toxiques du composé parental. Les espèces d'élevage peuvent donc constituer un vecteur de ces toxines ou de leurs métabolites dans des productions telles que la viande, le lait ou les œufs. C'est le cas notamment de l'aflatoxine B₁, dont le métabolite l'aflatoxine M₁ est retrouvé dans le lait des mammifères lorsque ceux-ci ont ingéré des aliments contaminés par l'aflatoxine B₁. Les mycotoxines sont généralement thermostables et ne sont pas détruites par les procédés habituels de cuisson et de stérilisation. Leur capacité à se lier aux protéines plasmatiques et leur lipophilie en font des toxiques capables de persister dans l'organisme en cas d'expositions répétées et rapprochées.

Les mycotoxines et le risque pour l'animal

Les animaux monogastriques d'élevage, volailles et porcs sont particulièrement exposés aux mycotoxicoses du fait de l'importance de la part des céréales dans leur alimentation et de l'absence du réservoir ruminal contenant des microorganismes capables de dégrader les toxines avant leur absorption intestinale. La susceptibilité des volailles aux aflatoxines a été à l'origine de la découverte de ces toxines après un épisode brutal d'hépatotoxicité létale survenu en 1960 dans des élevages de dindes en Grande-Bretagne. Ce fait a été à l'origine de la mise en évidence de la relation moisissures-toxines-maladies et du développement de la mycotoxicologie moderne. De même, de nombreux cas de néphropathie chez le porc signalés quelques années plus tard au Danemark ont conduit à la découverte du caractère contaminant naturel de l'ochratoxine A dans l'orge et de la qualification de son pouvoir toxique.

En France, en dehors de cas sporadiques correspondant à des accidents aigus observables dans différentes espèces animales, l'essentiel des problèmes est lié à une contamination chronique par les fusariotoxines (trichothécènes, zéaralène, fumonisines) des aliments produits en France ou importés. Les problèmes ponctuels dus à l'importation de matières premières contaminées justifient des procédures de surveillance et de contrôle. Enfin, le développement des techniques de conservation des fourrages à la ferme sous forme humide (ensilages, balles rondes enrubbannées) et l'utilisation d'aliments humides comme les drêches et les pulpes de betterave peuvent également constituer un risque de développement des moisissures et de présence de mycotoxines⁽¹⁾.

Évaluation du risque mycotoxique

Issues d'une contamination généralement reconnue comme d'origine végétale, les mycotoxines constituent un problème très actuel de qualité et de sécurité sanitaire des aliments. Si la mise en place de réglementations est déjà intervenue à propos des aflatoxines et de l'ergot en alimentation humaine et animale, de l'ochratoxine A, de la patuline, du DON, de la zéaralène et des fumonisines en alimentation humaine, elle est en préparation pour l'ochratoxine A, le DON, la zéaralène et les fumonisines en alimentation animale.

L'évaluation du risque mycotoxique demeure délicate. En effet, ce risque est d'essence naturelle, l'homme n'en maîtrisant pas la survenue (liée aux conditions climatiques notamment), il est pernicieux car la contamination fongique est difficilement contrôlable et enfin il peut être multiple en raison de la capacité que peut avoir une même moisissure à produire différentes mycotoxines. En effet, plusieurs toxines d'une même famille structurale ou présentant des structures différentes peuvent se retrouver dans le même produit alimentaire et, *a fortiori*, dans une ration composée de divers ingrédients alimentaires. Cette situation naturelle pose des problèmes car les études menées sur les interactions toxiques demeurent limitées et sont peu informatives.

Devant ce constat, il convient de mettre en place des moyens de prévention incluant des stratégies agronomiques (bonnes pratiques agricoles incluant le choix des variétés, les pratiques culturales, les traitements phytosanitaires...), l'amélioration des conditions de récolte et de stockage et du suivi tout au long de la chaîne alimentaire. Le cas du mode de production biologique restreint le recours aux traitements fongicides mais privilégie des techniques défavorables à la contamination par les mycotoxines telles que la rotation des cultures, le travail du sol, l'antécédent cultural, la faiblesse des apports azotés et la non utilisation des régulateurs de croissance. Les données disponibles de contamination de produits issus de l'agriculture biologique par les mycotoxines, bien que limitées, montrent des taux de contamination variables, sans qu'il puisse être dégagé de grandes différences avec ceux des produits issus de l'agriculture conventionnelle⁽²⁾.

Il est enfin nécessaire de poursuivre une activité de recherche soutenue afin d'améliorer encore les connaissances sur la toxicité des dérivés et notamment dans les cas d'associations entre mycotoxines, entre mycotoxines et agents pathogènes infectieux, ou entre mycotoxines et autres contaminants...

Objectif de ce document

Ce document présente la synthèse d'un rapport détaillé, en cours de rédaction finale, d'une revue des connaissances disponibles sur les mycotoxines présentant un risque pour la santé humaine et/ou animale.

Chaque chapitre traite d'une mycotoxine ou d'une famille de mycotoxines, de ses propriétés physico-chimiques, toxicologiques, des facteurs de développement de la (ou des) moisissure(s) toxigène(s), des méthodes d'analyses, des effets sur la santé humaine et/ou animale au travers des données épidémiologiques, lorsqu'elles existent, des données de contamination des denrées alimentaires et d'une estimation de l'exposition alimentaire de la population française métropolitaine ainsi que d'un point réglementaire.

(1) Bonnes pratiques de fabrication de l'ensilage pour une meilleure maîtrise des risques sanitaires. Rapport Afssa 2004. www.afssa.fr

(2) Évaluation nutritionnelle et sanitaire des aliments issus de l'agriculture biologique. Rapport Afssa 2003. www.afssa.fr

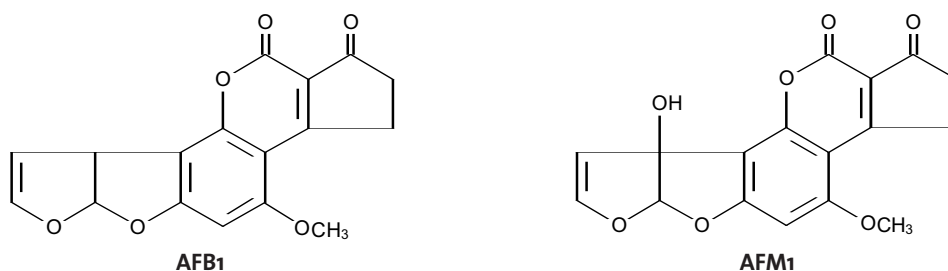
L'investigation menée lors de la « maladie X du dindon », qui a sévi en 1960 en Angleterre, a permis de mettre en évidence la présence d'une toxine dans la nourriture de ces volailles, à base de tourteaux d'arachide. Des études conduites sur la matière première qui avait été contaminée par une moisissure du genre *Aspergillus* aboutirent à la caractérisation des aflatoxines. Ces travaux furent à l'origine de la découverte des toxines de moisissures ou mycotoxines. Comme il est courant de compléter la ration alimentaire du bétail laitier par des tourteaux d'arachide ou un mélange de graines oléagineuses, l'éventuel passage des aflatoxines dans le lait a été très vite recherché. Dès 1963, il fut démontré que, chez les vaches laitières, l'aflatoxine B₁ (AFB₁), représentant majeur du groupe des aflatoxines, absorbée lors de l'ingestion de tourteaux contaminés, est partiellement métabolisée en un dérivé, communément appelé « Milk Aflatoxin 1 » ou aflatoxine M₁ (AFM₁). De telles études ont montré que les mycotoxines peuvent contaminer l'alimentation de l'homme non seulement par voie directe « végétal-homme » ou pseudo-directe « végétal-produits végétaux transformés-homme », mais aussi en empruntant un cheminement complexe le long des chaînes alimentaires : végétal-alimentation animale-produits animaux et dérivés-homme. L'aflatoxine B₁ s'est révélée comme étant l'un des plus puissants cancérogènes d'origine naturelle.

Propriétés physico-chimiques

Les aflatoxines sont des 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 alcool méthylique), elles sont assez facilement extraites. Sous lumière ultra-violette (U.V. longs), elles sont fluorescentes (bleue pour les AFB "blue" et verte pour les AFG "green", l'AFM₁ ayant une fluorescence bleu-mauve).

- AFB₁** : formule brute : C₁₇H₁₂O₆
Masse molaire : 312,3 g/mol (voir figure 1)
- AFB₂** : formule brute : C₁₇H₁₄O₆
Masse molaire : 314,3 g/mol
- AFG₁** : formule brute : C₁₇H₁₂O₇
Masse molaire : 328,3 g/mol
- AFG₂** : formule brute : C₁₇H₁₄O₇
Masse molaire : 330,3 g/mol
- AFM₁** : formule brute : C₁₇H₁₂O₇
Masse molaire : 328,3 g/mol (voir figure 1)

Figure 1 : structure moléculaire des aflatoxines AFB₁ et AFM₁.



Méthodes d'analyse

Dans les produits végétaux, la qualité de l'échantillonnage est primordiale compte tenu de la contamination habituellement très hétérogène. Pour les aliments pour animaux, la méthode d'échantillonnage AOAC 977.16 fut la première élaborée à cet effet. Deux autres normes s'y rattachent : ISO 6497 et prNF EN ISO 6498. Le règlement (CE) n° 401/2006 de la Commission du 23 février 2006 fixe les modes de prélèvement d'échantillons et des méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en mycotoxines des denrées alimentaires.

Les méthodes validées de dosage des aflatoxines totales (AFB₁+B₂+G₁+G₂) ou AFB₁ seule sont généralement basées sur des systèmes chromatographiques de purification et de séparation (telle que la chromatographie liquide haute performance, CLHP). Elles s'appliquent aux matrices pour lesquelles une réglementation existe. Citons parmi elles celles pour les grains (AOAC 990.33), pour l'alimentation du bétail (ISO 14718:1998, et AOAC 2003.02) et de manière plus ciblée pour le maïs, les arachides brutes et le beurre d'arachide (AOAC 991.31 ou Norme NF EN 12955), pour les cacahuètes, les pistaches, les figues et le paprika en poudre (AOAC 999.07 ou Norme NF EN 14123), ou pour les aliments pour bébés (AOAC 2000.16). Des méthodes analytiques de même type ont été validées pour le dosage spécifique de l'AFM₁ dans le lait liquide (IDF 111A:1990 et AOAC 2000.08) et dans le lait en poudre (IDF 171:1995/ISO 14501 et IDF 190:2003/ ISO 14674).

À côté de ces méthodes quantitatives des méthodes immuno-enzymatiques telles que ELISA ont pour objectif de permettre un dépistage ou tri des aliments non conformes en un temps limité sur un nombre étendu d'échantillons. Cet outil est appliqué surtout au dosage de l'AFB₁ dans les matières premières et les grains. Certains kits ont fait l'objet d'études inter-laboratoires sous l'égide de l'AOAC et ont été indexés (par exemple AOAC 989.06, spécifique des aliments pour animaux). Néanmoins, il convient de noter qu'aucun kit ELISA n'a été validé selon le récent protocole harmonisé ISO/AOAC/IUPAC. En revanche, le guide ISO 14675 décrit les spécifications minimales des kits ELISA destinés à la détection de l'AFM₁ dans les produits laitiers. Plus largement, l'AOAC a édicté des règles pour la caractérisation des anticorps utilisés dans les méthodes immuno-chimiques pour les mycotoxines.

Facteurs influençant la teneur en aflatoxines dans les denrées

Les aflatoxines B₁, B₂, G₁ et G₂ sont susceptibles d'être produites par certaines souches d'espèces appartenant au genre *Aspergillus* telles que *A. flavus* pouvant produire les aflatoxines B₁ et B₂, *A. parasiticus* et *A. nomius* (rencontrée rarement) pouvant produire en plus les aflatoxines G₁ et G₂. *A. flavus* est le principal agent de contamination du maïs et des graines de coton, tandis qu'*A. parasiticus* est présent surtout dans les graines d'arachide. Les conditions les plus favorables pour le développement d'*A. flavus* et la production d'aflatoxines nécessitent une activité en eau (a_w) de 0,84-0,86 et une température comprise entre 25 et 40 °C. Ces proliférations fongiques et les productions d'aflatoxine ont lieu au champ et au cours du stockage. Au champ, les insectes attaquent la surface des grains facilitant l'accès de la moisissure aux structures internes qui contiennent les nutriments et représentent ainsi un facteur important de risque. Un tel scénario ne concerne pas seulement les zones tropicales et les cultures d'arachide mais aussi les zones tempérées lors de saisons exceptionnellement chaudes mais de plus en plus fréquentes pour certaines cultures comme le coton ou le maïs et les ensilages de maïs.

Les aflatoxines sont peu sensibles aux traitements thermiques (stérilisation, pasteurisation, congélation) ou de séchage (déshydratation, lyophilisation). Néanmoins, certains procédés technologiques modifient la teneur initiale en aflatoxines dans la matière première pour aboutir, selon la matrice et le procédé, soit à une quasi-élimination, soit au contraire à une concentration de la teneur en aflatoxines dans le produit fini ou l'aliment transformé. Parmi les procédés de transformation du maïs, l'amidonnerie par voie humide réduit la concentration en aflatoxines dans l'amidon au niveau de 1 % de la teneur initiale dans les grains. Le procédé à sec provoque une réduction de la concentration en aflatoxines dans la farine au niveau de 6-10 % de la teneur initiale.

En brasserie, les études expérimentales (contaminations artificielles) à partir du malt d'orge, du maïs, du sorgho et du blé montrent que, selon les études et les mélanges de céréales utilisés, le procédé réduit les niveaux d'aflatoxines dans la bière jusqu'à 5-27 % de la teneur initiale.

La torréfaction des arachides de bouche (cacahuètes) est efficace pour réduire la teneur initiale en aflatoxines.

Lors de l'extraction de l'huile, les aflatoxines B et G se retrouvent majoritairement dans les tourteaux (tourteaux de coton, d'arachide...) et minoritairement dans l'huile brute. Les traitements ultérieurs de raffinage de l'huile éliminent les traces d'aflatoxines.

En ce qui concerne les tourteaux destinés à l'alimentation animale, les processus de détoxification par l'ammoniaque associée ou non au formol permettent d'éliminer une partie des aflatoxines.

Pour le lait, une partie de l'AFB₁ absorbée par une vache laitière est excrétée dans le lait sous forme d'AFM₁. Concernant le devenir de cette aflatoxine dans les produits laitiers, lors de l'écémage, 10 % de la teneur initiale en AFM₁ dans le lait entier passent dans la crème et donc 90 % restent dans le lait écrémé. Cette teneur dans la crème lors du barattage se retrouve en quasi-totalité dans l'eau de barattage et de lavage (babeurre) et donc pas dans le beurre.

En technologie fromagère, une variabilité de répartition de la teneur en AFM₁ est observée selon la particularité du procédé de caillage : pour le caillage totalement lactique (type yaourt), l'émission de lactosérum étant faible, la teneur en AFM₁ reste quasiment inchangée entre le lait et la spécialité ; pour les types de caillages lactique-présure, la teneur en AFM₁ se répartit entre le caillé et le lactosérum. Lors du procédé de déshydratation, aussi bien pour le lait écrémé, le babeurre et le lactosérum, la totalité de l'AFM₁ se retrouve dans la poudre avec un facteur de concentration de 10 du fait de l'élimination de l'eau.

Effets chez l'homme

Deux syndromes humains d'intoxication aiguë mais d'étiologies indéfinies ont été reliés à l'ingestion d'aliments contaminés par les aflatoxines : le Kwashiorkor et le syndrome de Reye. Le Kwashiorkor associe hypo-albuminémie et immunosuppression. Le syndrome de Reye associe encéphalopathie et dégénérescence graisseuse des viscères. Ces deux syndromes ont été associés à l'aflatoxine car aucune autre cause n'a pu être identifiée et parce que cette mycotoxine a été trouvée chez les patients. Néanmoins ces cas ayant été observés chez des populations en malnutrition, le métabolisme de l'aflatoxine peut être modifié du fait de cet état. La dernière intoxication aiguë reconnue s'est déroulée d'avril à septembre 2004 dans les provinces du centre et de l'est du Kenya durant laquelle 341 cas ont été diagnostiqués et ont été responsables de 123 décès.

La plupart des études épidémiologiques tendent à montrer qu'il existe une corrélation entre une exposition chronique à l'aflatoxine via le régime alimentaire et une prévalence du cancer primitif du foie. Néanmoins, cette relation est modulée par d'autres facteurs qui influencent ce risque de cancer comme l'infection virale à l'hépatite B (HBV). La majorité des études épidémiologiques étayant la relation aflatoxine - cancer du foie provient de régions du globe, Asie du Sud-Est, Chine, Afrique Occidentale et Equatoriale où la prévalence de l'HBV et de l'AFB₁ est élevée. En Amérique Latine, la prévalence du cancer primitif du foie et de l'infection à l'HBV est faible alors que l'exposition à l'AFB₁ est élevée. La conduite de nouvelles études épidémiologiques dans les régions dites à risque a été recommandée par le JECFA en intégrant pour certains pays des campagnes de vaccination anti-HBV. Lorsque ces études auront été réalisées, une ré-évaluation des risques pour l'homme des aflatoxines pourra être réalisée.

Devenir et propriétés toxicologiques

Chez les ruminants, les aflatoxines sont absorbées au niveau du duodénum puis sont véhiculées dans l'organisme à partir d'une fixation sur les protéines plasmatiques. C'est le cas de l'AFB₁ liée à l'albumine. La présence de cet adduit dans le sérum peut servir de bio-indicateur d'exposition.

Chez les animaux monogastriques, l'absorption pourrait représenter près de 90 % de la dose administrée par voie orale. Cette absorption serait diminuée par différents produits dont les argiles, les aluminosilicates et les parois de levures. Un effet protecteur ayant été montré dans certaines études menées chez la volaille et le porc, ceci explique probablement l'usage de ce genre de composés en alimentation animale.

Les aflatoxines subissent un métabolisme hépatique intense. Une phase I de biotransformation mettant en jeu les enzymes mono-oxygénases à cytochromes P₄₅₀s (CYPs) est bien connue. Alors que ce sont les CYP_{2A-5} et CYP_{3A} qui interviennent chez la souris, c'est l'implication des CYP_{1A2} et _{3A4} qui est relevée chez les primates sub-humains. La voie dominante de l'activation *in vivo* de l'AFB₁ dans le foie humain se ferait par le CYP_{1A2} dans des réactions d'oxydation formant par hydroxylation l'AFM₁ et par époxydation l'AFB₁ 8,9-époxyde. Le CYP_{3A4} aurait une action plus secondaire et se trouve impliqué dans la formation par hydroxylation de la 3 α -hydroxy-AFB₁ (AFQ₁) et plus modestement dans la synthèse de l'AFB₁ 8,9-époxyde. Dans cette phase deux autres métabolisations enzymatiques de l'AFB₁ interviennent : une O-déméthylation pour former l'AFP₁ et une réduction de la fonction cétone en C₁ (via une NADPH réductase) pour former l'aflatoxicol (AFOL). Ce métabolisme est corroboré par des études montrant la présence des métabolites AFM₁, AFP₁ et AFQ₁ dans les urines d'individus exposés à l'AFB₁. Le lait est une voie réservée à l'AFM₁ pour un niveau d'exposition chronique en AFB₁ chez les mammifères. Une phase II du métabolisme concerne le devenir de l'AFB₁ 8,9-époxyde. Ceci inclut la conjugaison de l'AFB₁ 8,9-époxyde au glutathion par des glutathion S-transférases (GST). Une conjugaison à l'acide glucuronique des métabolites hydroxylés aboutit à la formation de glucurono-conjugués. Ceci inclut aussi l'association de l'AFB₁ 8,9-époxyde aux acides nucléiques (ADN) et l'intervention dans la synthèse des protéines, engendrant la toxicité dont notamment la génotoxicité et la cancérogénicité. Le site de formation d'adduits à l'ADN se situe en position N₇ de la guanine.

Une partie de l'AFB₁ est éliminée dans la bile sous forme de glutathion- et glucuronoconjugués. L'AFB₁ est aussi éliminée par voie urinaire sous forme inchangée ou sous forme métabolisée telle que AFM₁, AFP₁ et AFQ₁, ou sous forme de dérivés conjugués ou d'adduits à l'ADN.

Les études de toxicité aiguë montrent une grande variabilité d'une espèce animale à une autre : ainsi la DL50 varie de 0,3 mg/kg p.c. pour le caneton à 9 mg/kg p.c. pour la souris. L'AFB1 est la plus toxique, suivie par ordre décroissant de toxicité par l'AFM1, l'AFG1, l'AFB2 et l'AFG2. La toxicité aiguë entraîne généralement la mort des animaux, qui présentent un foie décoloré et augmenté de volume et un ictère avec présence d'ascite. Lorsque l'animal ne meurt pas, il y a prolifération de cellules indifférenciées, au niveau des canalicules biliaires. Les reins présentent des glomérulonéphrites et les poumons sont congestionnés. Les signes comportementaux les plus caractéristiques précédant la mort sont une démarche chancelante, de la nervosité et des spasmes musculaires.

En toxicité chronique, l'organe cible principal est le foie. De nombreuses études menées pendant les années 70 et 80 ont montré le caractère hautement cancérigène de l'AFB1 pour le foie. En 1993, le CIRC a classé l'AFB1 dans le groupe 1, l'AFM1 dans le groupe 2B et l'AFG1 dans le groupe 3. Différents facteurs tels que l'alcool et le régime alimentaire peuvent moduler le potentiel cancérigène des aflatoxines. Chez les porteurs de virus de l'hépatite B (HBsAg+), le potentiel cancérigène de l'AFB1 est 30 fois plus élevé que chez les non porteurs (HBsAg-). L'effet cancérigène des aflatoxines résulte de leur génotoxicité par la formation d'adduits à l'ADN sur le N7 de la guanine.

Lors des études chez l'animal de laboratoire, la dose effective d'AFB1 engendrant une tumeur du foie varie d'une espèce à l'autre : de 10-30 µg/kg dans le régime chez les poissons et oiseaux à 150 mg/kg chez la souris. Chez les espèces de primates testées, une variabilité est également constatée : tant au niveau de l'incidence (7-20 %) que de la dose effective (99-1225 mg/kg dans l'alimentation). Lors d'études expérimentales, rapportées par le JECFA, le potentiel cancérigène observé de l'AFM1 était 10 fois moindre que celui de l'AFB1 même chez des espèces sensibles telles que la truite « Arc en Ciel » et le rat « Fischer ».

En outre, l'AFB1 est tératogène et pourrait affecter les fonctions de reproduction. Lors d'une expérimentation chez la souris sur l'effet protecteur de la vitamine A, il a été observé chez les animaux non encore traités à la vitamine A une diminution du nombre des spermatozoïdes et des anomalies de leur morphologie. Le porcelet exposé aux aflatoxines pendant sa vie intra-utérine montre à la naissance lors de bilans plasmatiques, une diminution des taux de protéines totales et d'albumine, une augmentation des triglycérides et du cholestérol ainsi que des transaminases.

L'AFB1 a un effet immunosuppresseur. Cela semble dû à l'altération de la synthèse d'acides nucléiques et de protéines, accompagnée d'une diminution de la prolifération, de la maturation et de la production de cytokines : la réactivation d'infections parasitaires et la diminution de l'efficacité vaccinale ont été mises en évidence expérimentalement chez le lapin, la souris et le porc. Chez différentes espèces de poissons, une exposition à l'AFB1 entraîne une réduction de la capacité de phagocytose des macrophages, ou la suppression de l'activité bactéricide du sérum, de la fonction neutrophile, de la réponse humorale immune ou encore une suppression de la production d'immunoglobulines et de la prolifération des lymphocytes.

Valeurs toxicologiques de référence

En 1993, le CIRC a classé l'AFB1 dans le groupe 1, l'AFM1 dans le groupe 2B et l'AFG1 dans le groupe 3. Le JECFA et le SCF n'ont pas fixé de dose journalière tolérable (DJT) pour les aflatoxines⁽²⁾. En effet, ces substances présentant des effets cancérigènes génotoxiques sans seuil, 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).

Cependant, en se fondant sur des données épidémiologiques, le JECFA a estimé en 1999, qu'en Europe, l'ingestion de 1 ng d'aflatoxines/kg p.c./j augmenterait l'incidence du cancer du foie de 0,013 cancer par an pour 100 000 personnes. Cette incidence globale est calculée selon un indice composite des deux incidences observées, l'une chez les populations HBsAg+ qui représenteraient 1 % de la population européenne (0,3 cancer par an pour 100 000 personnes par ng d'aflatoxines/kg p.c./j) et l'autre chez les personnes HBsAg- (0,01 cancer par an pour 100 000 personnes par ng d'aflatoxines/kg p.c./j).

Exposition de l'homme aux aflatoxines par voie alimentaire

Une étude de la ration alimentaire totale (EAT) a été entreprise en 2000, afin de connaître le niveau de consommation et d'exposition de la population française aux aflatoxines à partir d'aliments de type « prêt à consommer ». Les apports ont été estimés à partir de 78 données de contamination pour les aflatoxines B1, B2, G1 et G2 et 70 données pour l'AFM1. Le tableau 3 récapitule les apports moyens et au 95^e percentile de consommation pour différents types de population.

(2) Cependant, en 1997, des valeurs indicatives calculées en utilisant des modèles d'extrapolation mathématiques de quantification du risque (avec des facteurs de sécurité de 2000 à 5000) ont été proposées par le Conseil supérieur d'hygiène publique de France (CSHPF) telles que 0,15 ng/kg p.c./j pour l'AFB1 ou 0,20 ng/kg p.c./j pour l'AFM1.

Tableau 3 : estimation des apports alimentaires moyens et des forts consommateurs (P95) pour différents types de population en aflatoxines B1, B2, G1 et G2 et en aflatoxine M1 (EAT, 2004⁽³⁾).

Type de population		Apport moyen (ng/kg p.c./j)	Apport au P95 (ng/kg p.c./j)	% d'individus pouvant dépasser la « limite maximale »	Apport moyen (ng/kg p.c./j)	Apport au P95 (ng/kg p.c./j)	% d'individus pouvant dépasser la « limite maximale »
Population générale	Adultes (15 ans et +)	0,12	0,35	0,01	0,09	0,21	0
	Enfants (3-14 ans)	0,32	0,89	3,4	0,022	0,55	0,2
Population végétarienne (15 ans et +)	Ovolactovégétariens	0,60	1,60	16,2	0,10	0,20	0
	Lactovégétariens	0,40	0,90	2,6	0,10	0,30	0
	Végétaliens	0,90	2,10	23	0	0	0

1 : limite maximale fixée par le JECFA et le SCF à 1 ng/kg p.c./j.

À titre de comparaison, la Tâche SCOOP européenne⁽⁴⁾ de 1997 a estimé l'exposition moyenne de la population française à l'aflatoxine B1 à 1,3 ng/kg p.c./j et à l'aflatoxine M1 à 0,4 ng/kg p.c./j. Les aliments les plus contributeurs à cette exposition sont, en raison de leur forte consommation, les céréales et les produits céréaliers pour l'aflatoxine B1 et le lait et la poudre de lait pour l'aflatoxine M1.

Suivi de l'exposition humaine : biomarqueurs

L'AFM1 et l'AFQ1 ont été retrouvées dans les urines humaines et l'AFM1 dans le lait maternel. Bien que la teneur de ces métabolites, rapportée au niveau d'exposition en AFB1 ne soit pas connue, 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. Ces détections permettent néanmoins de compléter le dosage de l'AFM1 excrétée et ainsi conforter l'état d'exposition aux aflatoxines via l'alimentation.

Effets sur la santé animale et transfert dans les produits animaux

Chez le **porc**, les épisodes d'aflatoxicoses en élevage sont saisonniers (fréquence maximale en hiver) et ont pour origine la contamination principalement du maïs mais aussi de graines d'arachides et du sorgho. Les cas décrits proviennent surtout des USA et notamment d'élevages situés dans la « corn belt ». La mortalité et la morbidité dépendent de la teneur et de la durée d'exposition. Des intoxications aiguës sont survenues lorsque les animaux ont été exposés à des contaminations supérieures à 20 mg d'aflatoxines/kg d'aliment. La mort survient en quelques jours avec des hémorragies. Les intoxications chroniques ont été observées pour des teneurs en aflatoxines de 1 à 3,5 mg/kg d'aliment absorbé pendant un mois. Elles se traduisent par une diminution de prise alimentaire et de gain de poids dès les premiers jours, une asthénie puis, pour les cas sévères, coma et enfin mort. L'autopsie révèle un foie pâle ou décoloré, parfois cirrhotique. L'examen histologique montre des hépatocytes gonflés et vacuolés, une hyperplasie des canalicules biliaires, et une fibrose, voire une nécrose, pour les cas sévères.

(3) Étude de l'alimentation totale française. Mycotoxines, minéraux et éléments traces. (2004). Rapport INRA/DGAL. Coordinateur Jean-Charles Leblanc.

(4) SCOOP reports on Tasks 3.2.1. (1997). Risk Assessment of Aflatoxins by the population of EU members states.

Chez **les volailles**, il existe une grande disparité dans la sensibilité à l'AFB₁, le caneton apparaissant très sensible et la caille particulièrement résistante. Une hyperplasie nodulaire avec fibrose et prolifération des canalicules biliaires sont les lésions observées pour des doses de l'ordre de 0,1 mg/kg d'aliment chez le canard, 0,3 à 0,5 mg/kg d'aliment chez la dinde et 0,5 à 2 mg/kg d'aliment chez le poulet. Lors d'exposition prolongée pendant plusieurs semaines (souvent plus de 10), la fibrose hépatique s'accompagne de tumeurs et d'embryolétalité avec tératogénèse. On observe aussi une diminution des performances zootechniques.

La persistance à l'état résiduel de l'AFB₁ et de ses métabolites semble variable selon les espèces et selon les études. Ces divergences ne sont pas toutes explicables par des différences de métabolisme entre espèces, il semble que les méthodes de détection utilisées ainsi que les procédures d'extraction de la toxine et de ses métabolites soient déterminantes. En dépit des discordances, le foie et les reins contiennent des quantités plus élevées de toxines et/ou métabolites que les muscles, en dehors du gésier qui est directement exposé.

Lors de régimes alimentaires avec des aliments contenant des teneurs élevées, la caille semble un vecteur plus important de résidus que les autres espèces aviaires. La poule serait un vecteur plus important de résidus que le poulet. Une excrétion dans les œufs est également possible lors d'administration de doses très élevées.

Chez **les ruminants (bovins, ovins et caprins)**, les principales sources d'aflatoxines en Europe sont issues d'aliments importés comme les graines d'arachide et de coton utilisées à l'état brut ou sous forme de tourteaux pour fournir des protéines. Du maïs et certains ensilages de maïs produits en Italie ont également été contaminés par des aflatoxines. L'AFB₁ est peu ou pas bioconvertie par les microorganismes du rumen.

Bien qu'il existe une variabilité dans la sensibilité des différentes espèces de ruminants aux aflatoxines, les effets toxiques généraux se manifestent au niveau zootechnique par une diminution des quantités ingérées et une diminution significative de la production animale. L'altération des fonctions hépatiques est semblable à celle observée chez les animaux monogastriques. Les effets immunosuppresseurs des aflatoxines rendent les animaux plus sensibles aux infections et diminuent la résistance acquise par la vaccination. Des signes cliniques d'intoxication apparaissent après l'ingestion de 1,5 à 2,23 mg d'AFB₁/kg d'aliment, et de plus de 50 mg/kg d'aliment chez les petits ruminants. L'AESA rapporte que la dose de 0,020 mg d'AFB₁/kg d'aliment n'a aucun effet sur la santé des ruminants. Toutefois, l'Autorité précise qu'une exposition longue à des concentrations faibles d'AFB₁ qui correspond à la situation la plus fréquente sur le terrain, peut conduire à des fibroses hépatiques et des tumeurs du foie. Ces conditions ont été à l'origine de la formation de carcinomes hépatiques chez des moutons élevés en dehors de la zone européenne.

La quantité d'AFM₁ retrouvée dans le lait est corrélée avec le niveau de contamination des aliments consommés par **les animaux laitiers**. De 1 à 6 % de la quantité d'AFB₁ absorbée par une vache laitière sont excrétés dans le lait sous forme d'AFM₁. Ce pourcentage est soumis à des variations individuelles dues à l'état physiologique et métabolique de l'animal. Il varie aussi au cours du temps puisque la teneur en AFM₁ dans le lait apparaît environ 12 heures après l'ingestion d'un régime contaminé par l'AFB₁, atteint un maximum en un ou deux jours puis disparaît en quatre à cinq jours lorsque la distribution de l'aliment contaminé cesse. En considérant le scénario le plus défavorable d'une vache forte productrice (produisant plus de 40 litres de lait par jour) ingérant une quantité importante d'aliments complémentaires contaminés à la limite maximale réglementaire de 5 µg d'AFB₁/kg et un ensilage de maïs lui-même contaminé à la même teneur, avec un taux de transfert de l'AFB₁ de 6 % dans le lait, il est possible de dépasser les teneurs maximales de 0,05 µg et de 0,025 µg d'AFM₁/L dans le lait destiné à l'alimentation des adultes et des enfants, respectivement. Cette possibilité s'amenuise lorsque l'on considère d'autres régimes alimentaires (à base d'herbe, d'ensilage d'herbe ou de foin) à faible probabilité de contamination par des aflatoxines et avec des niveaux de production plus faibles pour lesquels les taux de transfert sont plus limités.

Les laits de grand mélange qui sont commercialisés pour la consommation courante présentent un risque moindre de contamination en AFM₁ par rapport à ceux prélevés sur des exploitations laitières individuelles.

Au vu de ces considérations, l'AESA a estimé que la réglementation s'appliquant aux aliments complémentaires pour vaches laitières (5 µg AFB₁/kg) est en cohérence avec la teneur maximale réglementaire de 0,05 µg AFM₁/kg pour le lait de consommation courante. Il faut toutefois rappeler que la teneur limite est fixée à 0,025 µg AFM₁/kg pour les laits destinés à l'alimentation infantile.

Le nombre réduit de données concernant le taux de transfert de l'AFB₁ dans le lait des ovins et des caprins laitiers, rend ce raisonnement difficilement extrapolable à ces productions animales.

Pour **les carnivores domestiques et pour les équidés**, dont l'espérance de vie est généralement longue et dont la sensibilité aux mycotoxines est grande, c'est tout autant le risque aigu associé à la consommation d'aliments fortement contaminés que celui lié à la consommation durable d'aliments peu contaminés qui doivent faire l'objet d'une surveillance attentive.

Concernant les **carnivores** domestiques, l'aflatoxicose a été très tôt associée à des désordres hépatiques tel que l'hépatite X décrite dès les années 50. C'est le plus souvent suite à la consommation de produits de boulangerie moisés ou d'aliments secs préparés à partir de céréales ou de tourteaux contaminés que sont observés les cas d'intoxication. Les formes subaiguës (de 0,3 à 0,5 mg/kg d'aliment) ou aiguës (plus de 1 mg/kg d'aliment) sont les plus fréquentes avec anorexie, vomissement, dépression, puis ictère associé à une hépatite nécrosante entraînant la mort de l'animal dans un délai d'autant plus court que la contamination est plus sévère. Peu de cas d'intoxication chronique avec apparition de tumeurs hépatiques sont décrits. Les désordres cliniques pouvant apparaître à partir de 0,1 mg d'AFB par kg d'aliment, une grande vigilance s'impose quant à l'utilisation de dérivés céréaliers ou d'oléagineux dont les conditions de récolte et/ou de conservation n'ont pas été parfaitement maîtrisées.

Tous les cas d'aflatoxicose décrits dans la littérature soulignent la sensibilité particulière des **équidés** à l'action hépatotoxique des aflatoxines (dès 55 µg/kg d'aliment). Cette espèce constitue une cible à risque lors de l'utilisation de céréales, de coproduits céréaliers ou de coproduits d'oléagineux trop fortement contaminés par les aflatoxines pour la fabrication d'aliments composés notamment sur l'exploitation. Le tableau clinique est dominé par des signes d'ataxie, d'hyperthermie, d'anorexie, d'ictère et d'hémorragies, l'évolution étant le plus souvent mortelle dès que la dose d'AFB administrée à l'animal dépasse 0,1 mg/kg p.c.). Là encore, la sensibilité de l'espèce doit conduire à une grande vigilance quant à l'utilisation de dérivés céréaliers ou d'oléagineux dont les conditions de récolte et/ou de conservation n'ont pas été parfaitement maîtrisées.

Chez les poissons (et les crustacés), dans les années 1960, l'AFB₁ a été responsable d'une forte incidence de cancers hépatiques dans les élevages de truites arc-en-ciel (*Onchorhynchus mykiss*) aux USA. Dans la plupart des cas, les poissons d'élevage ne montrent pas de signes alarmants de toxicité, à l'exception d'une immunosuppression, démontrée chez la carpe indienne. Certaines espèces de poissons d'élevage sont plus exposées que d'autres du fait de leur type d'alimentation. Ainsi, le poisson chat d'élevage a un risque d'exposition élevé par le biais de son alimentation qui peut contenir jusqu'à 25 % de tourteau de coton. La crevette est exposée également à une alimentation pouvant contenir des aflatoxines : une mortalité élevée est observée en cas d'exposition alimentaire de 10-20 µg AFB₁/kg d'aliment, ainsi qu'une réduction de la croissance et des dommages au niveau de l'hépatopancréas avec des modifications biochimiques de l'hémolymphe.

Chez le poisson-chat, une étude pharmacocinétique a montré qu'après administration orale d'AFB₁ (250 µg/kg p.v.), les résidus disparaissent rapidement après 24 h dans le plasma et le muscle. Ce modèle pharmacocinétique et ces données tissulaires indiquent un potentiel très faible d'accumulation d'AFB₁ et de ses métabolites dans les tissus comestibles de poissons chat ayant consommé de l'aliment contaminé. En revanche, une accumulation d'AFB₁ et de ses métabolites est possible dans le foie et dans d'autres tissus non comestibles de la truite arc-en-ciel, mais pas dans les muscles. Aucune trace d'AFB₁ ou de ses métabolites n'a été retrouvée dans le muscle de la crevette noire tigrée thaïlandaise après ingestion de 20 µg d'AFB₁/kg d'aliment pendant 10 jours. Ces données suggèrent un risque toxicologique faible pour le consommateur de ces produits.

Dans son avis sur l'évaluation des risques dus à la présence d'AFB₁ dans les ingrédients alimentaires des animaux, l'AESA considère qu'il n'est pas possible de définir une dose sans effet (NOEL) à partir des données scientifiques disponibles. Elle note toutefois que la marge entre la dose toxique (> 1,5 mg/kg d'aliment complet) et la dose limite réglementaire (0,02 mg/kg d'aliment complet pour les porcs et volailles ; 0,05 mg/kg d'aliment complet pour les ovins et ovins non laitiers ; 0,005 mg/kg d'aliment pour les animaux laitiers) est suffisamment large pour éviter tout risque de toxicité pour les animaux.

Réglementation

Dans le cadre du règlement 1831/2003/CE (abrogeant le règlement 466/2001/CE et ses modifications) portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires et de la directive 2002/32 (et ses modifications) sur les substances indésirables dans les aliments pour animaux, des teneurs maximales ont été fixées pour les aflatoxines (tableau 4).

Tableau 4 : 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

Données de contamination

Dans le cadre des plans de surveillance et de contrôle des services de l'État, les aflatoxines ont été recherchées régulièrement depuis de nombreuses années dans les céréales, les épices, les graines oléagineuses et le lait. Dans les cas de non-conformité, les actions correctives sont entreprises telles qu'interdiction de mise le marché et saisie ou refus des lots contaminés à l'importation.

Aflatoxines B et G

Les analyses réalisées dans le cadre des plans de surveillance (2001-2004) n'ont pas détecté la présence d'aflatoxines totales (B1, B2, G1, G2) dans les semoules et farines de blé. L'AFB1 n'a pas été quantifiée dans plus de 85 % des échantillons de céréales. Les contaminations moyennes des céréales en AFB1 sont comprises entre 0,2 et 0,3 µg/kg. Seuls un échantillon de riz, un de semoule de maïs et un de farine de maïs dépassaient la limite réglementaire (2 µg/kg).

Les aflatoxines totales n'ont pas été détectées (LOD = 0,1 µg/kg) dans près de 80 % des échantillons analysés de fruits secs et graines oléagineuses. Toutefois, quelques échantillons contaminés présentent des teneurs importantes (398 µg/kg au maximum avec 12 % des échantillons qui dépassent les limites réglementaires). Pour la seule aflatoxine B1, 13 échantillons sur 106 présentent des teneurs supérieures à la limite maximale réglementaire de 2 µg/kg (2,6 à 153 µg/kg), conduisant à une moyenne de contamination de 5,31 µg/kg.

La contamination moyenne des épices par les aflatoxines totales est de 3,67 µg/kg mais seulement 6 % des échantillons dépassent la limite réglementaire. Pour la seule aflatoxine B1, les échantillons d'épices, dont 9 % se trouvent au-delà de la limite réglementaire, présentent une teneur moyenne de 3,34 µg/kg.

Aflatoxine M₁

Des plans de surveillance de la contamination des laits de production sont réalisés chaque année à raison d'au moins une centaine de prélèvements. Les résultats des analyses montrent une conformité à la teneur maximale réglementaire de 0,05 µg/L.

L'aflatoxine M₁ a été recherchée entre 1995 et 2005 dans le lait et la poudre de lait destinés aux adultes, ainsi que dans les laits infantiles. L'AFM₁ n'a pu être quantifiée que dans 10 % des échantillons de lait infantile avec une contamination moyenne de 0,0019 µg/L. La contamination des laits de consommation est de 0,0028 µg/L en moyenne. Dans les deux types de lait, les limites réglementaires ne sont jamais dépassées. La poudre de lait est plus contaminée (0,03 µg/kg) mais sa dilution conduit à une concentration dans la préparation finale voisine de celle du lait brut.

Conclusion

Le groupe des aflatoxines et son représentant principal l'aflatoxine B₁ (tant en termes de teneur et de fréquence dans les aliments à risque que d'impact toxique) est le groupe de mycotoxines le mieux étudié et le plus réglementé. C'est le seul groupe identifié comme cancérigène chez l'homme. De plus, il a été mis en évidence que l'aflatoxine B₁ est retrouvée sous la forme de son métabolite M₁ dans le lait.

Les mesures réglementaires en vigueur dans l'Union européenne sont des plus sévères. Même si les mesures de surveillance et ces réglementations permettent de maîtriser le risque à un niveau très faible, ces actions doivent être poursuivies pour maintenir le risque à ce bas niveau :

- au plan scientifique : la réalisation d'études de métabolisme et de transfert dans les œufs et la viande chez les volailles, ainsi que dans le lait chez les petits ruminants s'avère nécessaire. En outre, des études complémentaires viseront à confirmer le taux de transfert dans le lait chez les vaches fortes productrices, établi jusqu'ici à partir d'une seule étude ;
- au plan réglementaire : la conduite des plans de contrôle visant à vérifier l'application des mesures législatives prises au sein de l'Union européenne est à maintenir et cela aussi bien au stade des matières premières végétales qu'au stade des produits finis ou dérivés tels que le lait. Plus particulièrement, un plan de surveillance et contrôle orienté, en ciblant par exemple une région suivie sur plusieurs années, permettra de surveiller l'évolution des teneurs en aflatoxines dans les matières premières végétales en fonction des conditions climatiques ;
- au niveau préventif : les mesures réglementaires peuvent être contraignantes pour certains acteurs professionnels, notamment pour ceux des pays en développement qui abritent une grande part des zones à « risque – aflatoxines ». De ce fait ces mesures sont à accompagner par l'établissement de guides de bonnes pratiques à appliquer à la production et à la transformation. C'est l'accent que mettent certaines instances internationales en charge de la gestion des risques dans leurs travaux actuels qui doivent donc être encouragés.

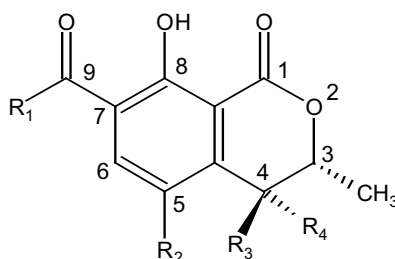
Les ochratoxines A, B et C sont des métabolites de diverses moisissures des genres *Aspergillus* ou *Penicillium*. Parmi ces ochratoxines, compte tenu de la prévalence et de la toxicité de l'ochratoxine A (OTA), seule cette dernière sera traitée. Elle est produite au champ sur le raisin et lors du stockage de nombreuses denrées alimentaires (céréales, café, cacao, fruits secs, épices, ...). Elle est également susceptible d'être présente dans les abats d'animaux (notamment le sang et les rognons) ayant consommé des aliments contaminés.

Propriétés physico-chimiques

L'OTA a été isolée pour la première fois à partir d'*Aspergillus ochraceus* en 1965 et a été identifiée dans les conditions naturelles, aux USA, en 1969, dans un échantillon de maïs. La formule brute de l'ochratoxine A est $C_{20}H_{18}ClNO_6$.

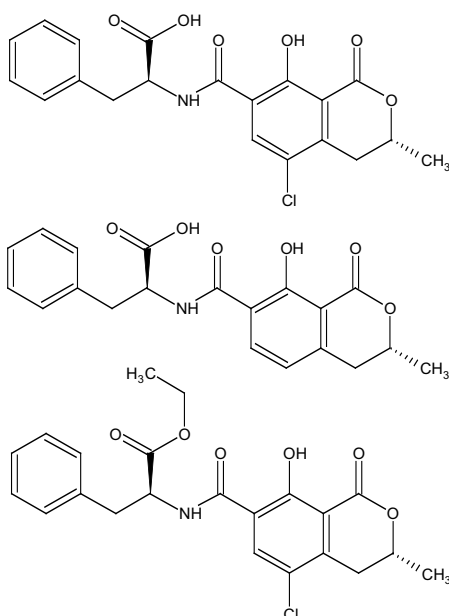
L'OTA, de masse moléculaire de 403,8 g/mol est un acide organique faible ayant un pKa de 7,1. A pH acide ou neutre, elle est soluble dans les solvants organiques polaires et très peu soluble dans l'eau. A pH alcalin, elle devient soluble et stable en solution aqueuse. En raison de sa structure, l'OTA se révèle stable au stockage et résiste généralement aux procédés de transformation industriels (figure 2).

Figure 2 : structure chimique générale des ochratoxines.



Les structures chimiques des ochratoxines A, B et C sont les suivantes (figure 3) :

Figure 3 : structures chimiques particulières des ochratoxines A, B et C (du haut vers le bas).



Méthodes d'analyse

Le règlement (CE) n° 401/2006 de la Commission du 23 février 2006 fixe les modes de prélèvement d'échantillons et des méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en mycotoxines des denrées alimentaires.

Des méthodes de dosage officielles sont disponibles pour la détermination de l'OTA dans les céréales et les produits dérivés, dans l'orge et le café et dans le vin et la bière.

Les méthodes extractives sont classiques et basées le plus souvent sur de l'extraction solide-liquide (échantillons solides) ou liquide-liquide (vin, bière) associant des solvants de natures très variables chloroforme-acide phosphorique, tert-butylméthyléther ou encore méthanol-eau. L'utilisation de colonnes d'immuno-affinité représente l'état de l'art pour la purification de l'OTA dans les denrées alimentaires.

Les immuno-essais, tout particulièrement l'ELISA et la RIA, sont des techniques appliquées en dépistage dans une minorité de laboratoires. La chromatographie couche mince est aujourd'hui moins utilisée que dans le passé pour déterminer la teneur en OTA dans les aliments, phénomène lié à des performances limitées notamment en ce qui concerne la spécificité du signal et de la précision/justesse de la mesure.

La technique de mesure la plus utilisée, au moins en Europe et en Amérique du Nord, est la chromatographie liquide haute performance couplée à la détection fluorimétrique (CLHP-FD). Alors que le couplage GC-MS s'est avéré mal adapté à l'analyse de l'OTA, le couplage LC-MS a démontré sa capacité à répondre aux attentes de la problématique, non pas en améliorant drastiquement la sensibilité mais plutôt en délivrant des signaux plus spécifiques aboutissant à des conclusions non ambiguës eu égard à l'identité de l'analyte. Selon les matrices, les limites de quantification sont comprises entre 0,01 et 0,1 µg/L pour les vins, 0,5 et 2 µg/kg pour les céréales et 0,1 et 0,5 µg/kg pour les abats.

Facteurs influençant la teneur en ochratoxine A dans les denrées

Moisissures toxigènes

Aspergillus ochraceus est décrit comme étant mésophile xérotolérant. Sa croissance est observée entre 8 et 37 °C avec un maximum entre 24 et 31 °C. Les conditions d'activité en eau les plus favorables sont toutefois de l'ordre de 0,95 à 0,99 A_w .

A. ochraceus est retrouvé dans divers produits alimentaires d'origine végétale comme les produits secs (haricots secs, graines de soja, épices, olives, fruits secs, noix de pécan, pistaches, cacahuètes et noisettes) et dans les céréales (riz, avoine, maïs). *A. ochraceus* a aussi été retrouvé dans des produits d'origine animale comme des fromages, salaisons, poissons ou viande séchés.

Penicillium verrucosum croît lentement en présence d'activité en eau faible ($A_w < 0,80$) et à basse température (entre 0 et 31 °C, avec un maximum à 20 °C). Il est confiné aux zones tempérées ou froides. Les supports potentiels de développement de *P. verrucosum* sont les céréales en Europe centrale, en Europe du Nord et au Canada.

A. carbonarius est la principale origine d'OTA dans les vignobles français, alors qu'en Espagne et en Italie, *A. niger* participerait aussi, à un niveau relativement faible, à la production de l'OTA. Les *Penicillium* se développent au cours de la maturation du raisin, cependant ils n'ont aucune incidence sur la production de l'OTA.

Effet des pratiques utilisées lors de la production et du stockage de produits agricoles

En Europe, la présence d'OTA sur les grains de céréales est due à une humidité trop importante lors du stockage. Pendant la durée du stockage, la teneur en eau dépend du taux d'humidité à la mise en silo et de la température du lot. Dans le cas où le taux d'humidité des grains est supérieur à 18 % (maïs et sorgho récoltés en général autour de 24 % d'humidité, céréales à paille certaines années très humides), il y a lieu de procéder à un séchage.

Dans le café, l'OTA est formée essentiellement pendant le stockage des grains. Les pratiques agricoles ont peu d'influence sur la concentration en OTA dans les grains. La maîtrise de la contamination est basée sur de bonnes pratiques de stockage incluant un séchage rapide.

Effet des procédés de transformation

Le nettoyage (avant ou après stockage) conduit à séparer des grains nettoyés à teneur plus faible en OTA des issues de nettoyage à teneur plus élevée en OTA. Les traitements ultérieurs de la plupart des productions agricoles diminuent la concentration en OTA (vinification, torréfaction pour le café et le cacao, extrusion de la farine...).

Effets chez l'homme

L'exposition humaine à l'OTA par voie alimentaire est associée à la survenue d'une pathologie nommée *Néphropathie Endémique des Balkans (NEB)*, qui réunit tous les critères d'une néphropathie tubulo-interstitielle chronique. Les signes cliniques sont ceux d'une insuffisance rénale progressive précédée par une anémie très marquée. Le tableau clinique associe une protéinurie tubulaire, une acidose tubulaire, une hyperuricémie et une hyperuricosurie ainsi qu'une diminution du volume des reins avec souvent des images de nécrose papillaire. L'évolution insidieuse aboutit en 2 à 10 ans à l'insuffisance rénale terminale, sans hypertension artérielle.

Des investigations ultérieures ont montré une forte contamination des denrées alimentaires par l'OTA dans les régions endémiques de la Bulgarie et de la Yougoslavie (d'où la dénomination « *NEB* »), des concentrations sériques d'OTA très élevées (de l'ordre de 2 à 50 ng/ml) ainsi que des adduits à l'ADN dans des tumeurs du tractus urinaire chez les sujets habitant les régions endémiques par rapport aux régions non endémiques.

Il est à remarquer par ailleurs que de nombreuses études réalisées à travers le monde ont montré la présence d'OTA dans le plasma des populations humaines ainsi que dans le lait maternel sans qu'on puisse établir une relation avec l'exposition alimentaire. Cependant, la longue demi-vie biologique de cette toxine chez l'homme pourrait être l'explication de ces observations.

Devenir et propriétés toxicologiques

L'OTA est absorbée tout d'abord au niveau de l'estomac en raison de ses propriétés acides. Les groupements hydroxyle et carboxylique jouent un rôle important dans la mesure où, pour un pH bas, la forme non ionisée favorise l'absorption de l'OTA. L'OTA est aussi absorbée dans l'intestin grêle au niveau du jéjunum proximal. Elle est hydrolysée en OT α non toxique par la carboxypeptidase A et la chymotrypsine ainsi que par les microorganismes du tube digestif (rumen des polygastriques et gros intestin chez toutes les espèces). Cette détoxification, avant absorption, réduit le risque de contamination par l'OTA des produits issus des ruminants et notamment du lait. Au niveau hépatique, l'OTA est transformée en des métabolites mineurs comme les 4R- et 4S-hydroxy-ochratoxine A (4-OH-OTA) et la 10-hydroxyochratoxine A. Les formes isomères de 4-OH-OTA sont considérées comme des métabolites de détoxification partielle.

La distribution dans les tissus de différentes espèces animales (rat, porc, poulet, chèvre) suit l'ordre suivant : rein > foie > muscle > tissu adipeux. Dans l'espèce humaine, l'OTA franchit la barrière placentaire.

La liaison de forte affinité de l'OTA aux protéines plasmatiques retarde son élimination et par conséquent contribue à l'ampleur de son temps de demi-vie. L'OTA sous forme de di-anion possède deux sites de liaison à l'albumine sérique humaine dont un de haute affinité. Une grande différence existe entre les temps de demi-vie plasmatique de l'OTA selon les espèces. Par voie orale, il est égal à 35,5 jours chez l'homme, 21 à 25 jours chez le singe rhésus, 3 à 5 jours chez le porc, 3,2 jours chez le veau pré-ruminant, 2 à 5 jours chez le rat, 1 à 1,6 jours chez la souris, 8,2 heure chez le lapin, 6,7 heures chez la caille, 4,1 heures chez les poulets et 0,8 heures chez la carpe. L'excrétion biliaire et la filtration glomérulaire jouent un rôle très important dans la clairance plasmatique de l'OTA. Cette toxine est éliminée très lentement de l'organisme chez certaines espèces animales, alors que ses métabolites sont éliminés beaucoup plus rapidement. En général, l'OTA et l'OT α sont excrétées dans les urines chez le rat alors que les -OH-OTA sont excrétées dans la bile. La réabsorption de l'OTA au niveau des tubules rénaux via des transporteurs anioniques favorise son retour dans le plasma et son accumulation rénale.

La DL₅₀ est de 30,3 mg/kg p.c. chez les rats mâles alors qu'elle est de 21,4 mg/kg p.c. pour les rats femelles. Les rats nouveau-nés sont considérablement plus sensibles que les adultes. Le chien et le porc sont les espèces les plus sensibles, la souris et le rat sont les moins sensibles.

Les études de toxicité subchronique par voie orale ont montré chez le rat des lésions dégénératives sur l'ensemble du système tubulaire. Une éosinophilie et une caryomégalie des cellules du tube contourné proximal sont notées à toutes les doses. On enregistre une diminution du poids corporel, une augmentation de la diurèse, une protéinurie, une glucosurie et une altération du transport urinaire des substances organiques. L'augmentation de la protéinurie serait due à une interférence avec la réabsorption des protéines par les cellules des tubes contournés.

L'OTA n'est mutagène dans le test d'Ames qu'en présence de microsomes hépatiques ou rénaux. L'OTA est génotoxique dans le test de réparation de l'ADN chez *Escherichia coli*, elle augmente le taux d'échanges de chromatides sœurs et induit la formation de micronoyaux dans les cultures de cellules de vésicules séminales ovines. Elle induit des cassures mono-brin de l'ADN dans différents tissus ou cellules de souris *in vivo* et *in vitro*.

L'OTA est cancérigène chez le rongeur avec induction de tumeurs rénales, hépatiques, mammaires et testiculaires. Une corrélation positive entre l'exposition à l'OTA et la NEB a été suggérée, et une corrélation entre la distribution géographique de la NEB et l'incidence élevée des cancers de l'épithélium urothélial a été montrée. Les concentrations sériques d'OTA mesurées sont plus élevées chez les patients atteints de la NEB et/ou du cancer de l'épithélium urothélial que chez les sujets non malades. L'OTA est classée dans le groupe 2B par le CIRC comme étant un cancérigène possible chez l'homme.

Concernant les effets embryotoxiques et tératogènes, une mortalité prénatale de l'ordre de 20 % a été observée chez la souris ayant reçu 4 mg d'OTA /kg p.c. aux 7^e, 8^e et 9^e jours après la gestation. Des anomalies du système nerveux central, des yeux et du squelette axial ont été enregistrées chez les fœtus. Les malformations les plus importantes et les plus communes sont celles affectant les structures crâniofaciales. Chez le rat, après deux administrations de 2,5 mg d'OTA /kg p.c. par voie orale aux 8^e et 9^e jours de la gestation, une augmentation du nombre de résorptions fœtales, une diminution du nombre moyen de fœtus par femelle et une baisse du poids moyen des fœtus et du placenta ont été observées.

L'exposition à l'OTA est responsable d'effets néphrotoxiques. L'exposition aiguë à l'OTA provoque la détérioration des fonctions tubulaires post-proximales. Elle conduit à une augmentation de l'excrétion du NaCl et une réduction de l'excrétion de K⁺ et H⁺. Une exposition chronique à l'OTA entraîne une réduction du débit sanguin rénal et par conséquent une diminution de la filtration glomérulaire. Le tubule proximal est surtout affecté lors d'une exposition chronique à l'OTA. L'OTA dégrade les fonctions du tube proximal entraînant une glucosurie et une enzymurie. La réabsorption des protéines filtrées par endocytose peut aussi devenir défaillante conduisant à une protéinurie. L'OTA est un puissant inhibiteur de l'activité de la phosphoenolpyruvate carboxykinase rénale *in vivo*, et en conséquence de la néoglucogenèse rénale.

L'effet diabétogène de l'OTA serait dû à une inhibition de la synthèse de l'insuline ou de son relargage par les cellules pancréatiques avec diminution de la glycolyse et de la glycogénèse et augmentation de la néoglucogenèse et de la glycogénolyse. L'OTA inhibe la synthèse des protéines chez plusieurs organismes procaryotes et eucaryotes *in vivo* et *in vitro*, cet effet étant dû au radical phénylalanine de la toxine. L'inhibition de la synthèse protéique s'effectue au niveau post-transcriptionnel ; la compétition entre l'OTA et la phénylalanine-ARNt-synthétase empêche l'élongation du peptide à des concentrations millimolaires. La peroxydation lipidique est induite *in vitro* par l'OTA dans des microsomes rénaux et hépatiques ou *in vivo* chez le rat traité avec 6 mg d'OTA /kg. Les cytochromes P450 biotransforment l'OTA en métabolites hydroxylés qui stimuleraient la peroxydation lipidique, entraînant une perturbation de l'homéostasie calcique et la mort cellulaire par apoptose. Enfin, l'OTA inhibe aussi la respiration mitochondriale.

L'OTA induit une déplétion des cellules lymphoïdes particulièrement dans le thymus, la bourse de Fabricius, la rate et les plaques de Peyer dans diverses espèces animales. Une neutrophilie et une éosinophilie sont également décrites chez la souris. La réponse proliférative des lymphocytes T murins et bovins aux mitogènes est diminuée ainsi que celle des lymphocytes périphériques humains. L'OTA peut entraîner l'apoptose dans les lymphocytes périphériques humains. Une diminution des teneurs en immunoglobulines et des capacités phagocytaires des monocytes et des polynucléaires neutrophiles a été observée chez la volaille. De plus, l'OTA inhibe la production d'anticorps en présence d'antigènes thymus-dépendants (ou non).

Valeurs toxicologiques de référence

L'OTA a été classée dans le groupe 2B (probablement cancérigène) par le CIRC (1993). Le Comité Scientifique européen de l'Alimentation Humaine (SCF, 1998), considérant le caractère cancérigène probable de l'OTA, sans que les données disponibles permettent d'identifier le mécanisme d'action qui induirait des tumeurs du tubule rénal chez le rat, a estimé qu'il convenait de réduire l'exposition alimentaire à une valeur de l'ordre de 5 ng/kg p.c./j. Cependant le SCF ne précise pas clairement si cette valeur doit être utilisée comme une DJT.

Après des évaluations en 1991 et 1996, le JECFA a confirmé en 2001 la Dose Hebdomadaire Tolérable Provisoire (DHTP) pour l'homme de 100 ng/kg de poids corporel par semaine (soit 14 ng/kg p.c./j). Le JECFA a considéré que des effets néphrotoxiques précédaient l'apparition de tumeurs rénales et a donc fixé la DHTP en se fondant sur des effets néphrotoxiques chez le porc dans une étude de toxicité subchronique (90 jours) où la plus petite dose identifiée est égale à 0,008 mg/kg p.c./j. Un facteur de sécurité de 500 a été appliqué à cette valeur. En se fondant sur la même étude et en considérant un facteur de sécurité de 450, l'AESA a réévalué à la hausse en 2006 la DHT à 120 ng/kg p.c./semaine. Cette évaluation se fonde notamment sur la démonstration de l'absence de génotoxicité directe de l'OTA (programme de recherche européen OTA Risk assessment : QL1-2001-016114).

Exposition de l'homme à l'ochratoxine A par voie alimentaire

Une étude de la ration alimentaire totale (EAT) a été entreprise en 2000, afin de connaître le niveau d'exposition à l'OTA de la population française générale et végétarienne à partir d'aliments « prêts à consommer ». Les apports ont été estimés à partir de 343 données de contamination dont 321 étaient inférieures à la limite de détection. Le tableau 5 récapitule les apports moyens et au 95^e percentile de consommation pour différents types de population.

Les aliments les plus contributeurs à l'exposition de la population française à l'ochratoxine A sont les céréales, le café, le vin, les fruits secs, la bière, le chocolat et les épices.

Tableau 5 : estimation des apports alimentaires moyens et des forts consommateurs (P95) pour différents types de population en OTA (EAT, 2004⁽⁵⁾).

Type de population		Apport moyen (ng/kg p.c./j)	Apport au P95 (ng/kg p.c./j)	% de la DJT ¹ pour P95	% d'individus pouvant dépasser la DJT ¹
Population générale	Adultes (15 ans et +)	2,2	3,5	20	0
	Enfants (3-14 ans)	2,1	7,8	45	0
Population végétarienne (15 ans et +)	Ovolactovégétariens	2,2	3,7	22	0
	Lactovégétariens	2,4	3,7	22	0
	Végétaliens	2,7	8,5	50	0

1 L'AESA a fixé une DHT de 120 ng/kg p.c./semaine, soit 18 ng/kg p.c./j.

Si l'on considère la recommandation du SCF de 1998 qui estime que l'exposition alimentaire à l'OTA devrait être en dessous de 5 ng/kg p.c./j, ces estimations montrent que les enfants et les végétaliens forts consommateurs (P95) pourraient dépasser cette valeur recommandée.

À titre de comparaison, la Tâche SCOOP européenne⁽⁶⁾ réalisée en 2002 (tableau 6) avec des données de contamination recueillies entre 1997 et 1999 confirme les niveaux d'exposition observés dans le cadre de l'étude de l'alimentation totale.

Tableau 6 : exposition alimentaire de la population française à l'ochratoxine A (Tâche SCOOP, 2002).

Type de population	Exposition moyenne (ng/kg p.c./j)	% de la DJT fixée par le JECFA ¹	% de la DJT fixée par l'AESA ¹
Tous consommateurs	2,5	18	15
Adultes (15 à 65 ans)	2,3	16	14
Enfants (2 à 14 ans)	3,4	24	20

1 Le JECFA a fixé une DHTP de 100 ng/kg p.c./sem, soit 14 ng/kg p.c./j.

2 L'AESA a fixé une DHT de 120 ng/kg p.c./semaine, soit 18 ng/kg p.c./j.

(5) Étude de l'alimentation totale française. Mycotoxines, minéraux et éléments traces. (2004). Rapport INRA/DGAL. Coordinateur Jean-Charles Leblanc.

(6) SCOOP report on Tasks 3.2.7. (2002). Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU members states.

Effets sur la santé animale et transfert dans les produits animaux

Dans de nombreux pays, des lésions rénales observées à l'abattoir **chez le porc** ont été associées à la consommation d'un aliment contaminé par l'OTA et reproduites par l'introduction de cette mycotoxine purifiée dans le régime des animaux.

La consommation n'est pas affectée par les faibles doses d'OTA, jusqu'à 0,3 mg/kg d'aliment, alors qu'elle est diminuée aux concentrations supérieures. La croissance des animaux est davantage réduite que la consommation alimentaire pour de faibles doses d'OTA.

Au plan clinique, l'OTA provoque une polydipsie et une polyurie. Ces symptômes sont persistants et apparaissent d'autant plus rapidement que la teneur en OTA du régime est élevée. La capacité de résorption tubulaire est réduite et les porcs manifestent une glucosurie et une protéinurie. L'excrétion urinaire d'électrolytes (potassium et sodium), de nitrites, de bilirubine est accrue et le pH de l'urine augmente alors que son osmolarité et sa densité diminuent. L'excrétion urinaire de leucine-aminopeptidase (LAP) et de γ -glutamyl-transpeptidase, enzymes localisées principalement dans la bordure en brosse des tubules proximaux, est augmentée. Des dépôts granuleux et des cellules épithéliales nécrotiques des tubules rénaux sont retrouvées dans l'urine. Dans le plasma, l'urémie et la créatininémie augmentent, cette dernière constituant un indicateur précoce et sensible des lésions rénales provoquées par l'OTA chez le porc. À une teneur supérieure à 1 mg/kg dans l'aliment, l'OTA augmente le nombre de leucocytes et le rapport neutrophiles/lymphocytes et diminue le taux d'érythrocytes et la teneur en hémoglobine du sang. Une atteinte de la fonction immunitaire avec réduction de l'activité des macrophages, de la prolifération lymphocytaire et de la production d'interleukines IL-2 a été constatée.

L'OTA provoque des lésions rénales, les reins deviennent pâles et hypertrophiés, et ces anomalies persistent pendant un mois après le retrait de l'aliment contaminé. Elle entraîne l'atrophie et la dégénérescence des tubules contournés proximaux avec épaissement des membranes basales et diminution de la hauteur de la membrane en brosse, une fibrose interstitielle et plus rarement une hyalinisation des glomérules.

Chez le verrat, l'OTA est retrouvée dans le liquide séminal et réduit la viabilité, la motilité et la longévité des spermatozoïdes. Les performances de reproduction des truies ne semblent pas modifiées.

Il existe peu d'études récentes consacrées au métabolisme de l'OTA chez le porc. Sa clairance est faible, et sa demi-vie très longue (89 heures), ce qui explique l'élimination lente des résidus d'OTA chez cette espèce. Après 5 mois de consommation d'un aliment contaminé par de l'OTA, la concentration de la toxine dans l'urine est plus élevée que dans le sérum sanguin. Après une semaine de retrait de l'aliment contaminé, elle est encore détectée dans l'urine mais plus dans le sang, ceci démontrant l'importance de la voie urinaire dans son élimination.

Dans les tissus de porcs, les taux d'OTA retrouvés sont corrélés aux niveaux de contamination des aliments. Les concentrations les plus élevées sont mesurées dans le sang et dans la bile. Par ordre de teneurs décroissantes, la toxine est également présente dans les reins, le myocarde, le foie, les muscles et les graisses. Compte tenu de sa longue demi-vie, l'OTA est retrouvée dans les produits carnés provenant des porcs qui en ont consommé, notamment la charcuterie renfermant du sang ou du foie.

Chez les volailles, la toxicité de l'OTA varie selon les espèces. Sa DL₅₀ par voie orale est de 3,4 mg/kg p.c. chez les poulets, 5,9 mg/kg p.c. chez la dinde et 16,5 mg/kg p.c. chez la caille. Les formes aiguës de l'intoxication sont rapportées lors d'exposition à des concentrations en OTA variant de 2 à plusieurs dizaines de mg/kg d'aliment. Une diminution de consommation alimentaire a été constatée chez la dinde mais pas chez le poulet. La mortalité peut atteindre 55 %.

Les formes chroniques de l'intoxication sont observées chez la volaille lors d'exposition pendant plusieurs semaines à des concentrations en OTA dans l'aliment de 0,3 à 4 mg/kg. Les principaux symptômes observés sont un retard de croissance et une mauvaise efficacité alimentaire. Une néphropathie est rapportée chez toutes les espèces exposées à des concentrations supérieures ou égales à 2 mg d'OTA/kg d'aliment. Chez les poules pondeuses, on note une diminution de la production d'œufs et une plus grande fragilité de la coquille. Enfin, on observe une altération des défenses immunitaires s'accompagnant dans certains cas, d'une augmentation de la sensibilité aux infections et infestations. Peu de données sont disponibles concernant le métabolisme de l'OTA et ses effets lors d'exposition à de faibles doses (quelques μ g/kg d'aliment).

Grâce à la situation du rumen en amont de l'intestin et à la capacité des microorganismes du rumen à hydrolyser l'OTA en OT α non toxique, **les ruminants** seraient peu sensibles à l'OTA. Ainsi la LOAEL de l'OTA administrée par voie orale est égale à 13 mg/kg p.c. Les dysfonctionnements de l'écosystème microbien ruminal associés à des pathologies digestives ou à l'ingestion de composés doués d'activité antibiotique ou bactériostatique pourraient expliquer le manque d'efficacité des microorganismes du rumen dans le processus de détoxification de l'OTA.

Différentes enquêtes épidémiologiques indiquent que les **carnivores domestiques** (chiens et chats) pourraient être sensibles à la présence d'OTA dans les aliments (de 0,1 à 13,1 µg/kg) sans que des signes pathologiques, y compris rénaux, aient pu être identifiés. L'espèce canine présente cependant une grande sensibilité à l'OTA (dès 0,2 mg/kg p.c.) chez les chiots avec atteintes rénales et évolution mortelle en moins de 2 semaines (NOAEL chez le chien : 0,1 mg/kg p.c./j). Les effets néfastes liés à l'OTA sont accentués en présence de citrinine, les 2 molécules exerçant une réelle synergie toxicologique.

Il n'y a pas de données sur la sensibilité **des équidés** à l'OTA.

On peut trouver de l'OTA dans les céréales telles que le blé et le maïs qui peuvent être incorporées dans l'alimentation **des poissons**, à des taux variables selon les espèces (type carnivore ou omnivore). Les poissons sont donc potentiellement exposés à une ingestion d'aliments contaminés par l'OTA. Toutefois, aucun cas d'ochratoxicose spontanée n'a été rapporté dans la littérature scientifique. La demi-vie de l'OTA semble très courte chez le poisson. Chez la truite, l'OTA ne s'accumule pas dans le muscle.

Réglementation

Dans le cadre du règlement 1881/2006/CE (abrogeant le règlement 466/2001/CE) portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires, des teneurs maximales ont été fixées pour OTA (tableau 7). Aucune teneur maximale en OTA n'est encore fixée dans les aliments pour animaux. Cependant, la Commission recommande⁽⁷⁾ d'appliquer des teneurs maximales en OTA dans les matières premières et aliments destinés à l'alimentation animale.

Tableau 7 : teneurs maximales en ochratoxine A dans les denrées alimentaires exprimées en µg/kg.

Matrice	Teneur maximale en µg/kg
Grains de céréales brutes (y compris le riz brut et le sarrasin)	5
Produits dérivés des céréales (y compris les produits de céréales transformés et les grains de céréales destinés à la consommation directe)	3
Préparation à base de céréales pour enfants en bas âge et aliments diététiques destinés à des fins médicales spéciales spécifiquement pour les nourrissons	0,5
Raisins secs (Corinthe, sultanines et autres raisins secs)	10
Grains de café torréfié et café torréfié moulu	5
Café soluble (instantané)	10
Vin (rouge, blanc et rosé et autres boissons à base de vin et/ou de moût de raisins)	2
Jus de raisin, ingrédients à base de jus de raisin dans d'autres boissons, y compris le nectar de raisin et le jus de raisin concentré reconstitué	2

Données de contamination

Dans le cadre des plans de surveillance et de contrôle des services de l'État, l'OTA a été recherchée sur de nombreux aliments prêts à consommer, entre 1998 à 2004. Dans les cas de non-conformité, les actions correctives sont entreprises telles qu'interdiction de mise le marché et saisie ou refus des lots contaminés à l'importation.

(7) Recommandation 2006/576/CE de la Commission du 17 août 2006 concernant la présence de déoxynivalénol, de zéaralénone, d'ochratoxine A, des toxines T-2 et HT-2 et de fumonisines dans les produits destinés à l'alimentation animale.

Les céréales les plus contaminées par l'OTA sont les farines de sarrasin et de seigle, avec des contaminations moyennes respectives de 1,82 µg/kg et 1,54 µg/kg. 18 % et 15 % de ces échantillons dépassent la limite réglementaire. Les produits transformés à base de céréales (céréales pour petit déjeuner, pain, pâtes, ...) présentent des teneurs très inférieures à la limite réglementaire (0,16 à 0,27 µg/kg en moyenne).

Les semoules et farines de blé et de maïs présentent des contaminations moyennes respectives de 0,52 et 0,14 µg/kg. Pour ces produits, 54 % et 95 % respectivement des échantillons ne peuvent être quantifiés (LOQ = 0,5 µg/kg).

En ce qui concerne les autres aliments, les épices s'avèrent être les aliments les plus contaminés par l'OTA (25 µg/kg en moyenne). Les confiseries à base de réglisse présentent une contamination moyenne de 11 µg/kg. Les cafés verts et les fèves de cacao sont relativement contaminés (4,05 et 2,59 µg/kg respectivement) en comparaison du café torréfié ou instantané (0,59 et 1,37 µg/kg) et du chocolat (0,35 µg/kg). Pour les raisins secs, la contamination moyenne est de 2,13 µg/kg, avec 6 % des échantillons supérieurs à la limite réglementaire. Enfin, la contamination moyenne du vin est de 0,15 µg/L. Seulement 1 % des 1090 échantillons analysés dépasse la limite réglementaire de 2 µg/L, avec une teneur maximale de 6,2 µg/L.

Pour les produits d'origine animale, la teneur moyenne en OTA dans les rognons de porcs est de 0,18 µg/kg, avec 90 % des échantillons non quantifiables (LOQ = 0,1 à 0,5 µg/kg).

La contamination des céréales brutes (maïs, blé et orge), surveillée entre 2000 et 2004, est inférieure à la limite de quantification (LOQ = 0,5 µg/kg) sur plus de 90 % des échantillons.

Conclusion

L'OTA est une mycotoxine qui présente des effets néphrotoxiques chez l'animal et suspectés chez l'homme. En 2006, la DHT a été réévaluée à 120 ng/kg p.c./semaine par l'AESA. Cette réévaluation se fonde notamment sur la démonstration de l'absence de génotoxicité directe de l'OTA.

Des questions se posent toujours quant à l'origine et la signification toxicologique de la présence d'OTA à faible dose dans le sang humain et dans le lait maternel. Des études épidémiologiques, nécessaires pour éclairer cet aspect et mieux estimer le risque pour l'homme sont recommandées.

En raison du nombre important de données de contamination par l'OTA des denrées alimentaires inférieures à la limite de détection et de la méthode de calcul, l'exposition est vraisemblablement surestimée. Des techniques analytiques plus sensibles sont à développer de façon à affiner les estimations d'exposition pour mieux caractériser le risque pour le consommateur.

Dans le cadre des plans de surveillance et de contrôle, les farines de seigle et de sarrasin apparaissent les plus contaminées ; aussi conviendrait-il de renforcer les dosages d'OTA dans ces produits.

Les trichothécènes

Les trichothécènes constituent un groupe de métabolites secondaires produits par de nombreuses espèces du genre *Fusarium*, en particulier *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae* et *F. sporotrichioides*. Plus de 160 trichothécènes ont été identifiés, notamment le déoxynivalénol (DON), le nivalénol (NIV), la toxine T-2, la toxine HT-2, le diacétoxyscirpénol (DAS) et la fusarénone X (FX). Le trichothécène le plus fréquemment retrouvé est le DON.

Le développement des champignons producteurs de trichothécènes est favorisé par certaines conditions de température et d'humidité. Ces moisissures sont capables de résister à des conditions climatiques rigoureuses et leur production de toxines est fortement stimulée par un passage à basse température. Ces événements peuvent survenir en culture ou durant les récoltes, mais aussi lors d'un stockage en conditions humides avant le séchage des grains.

Les denrées susceptibles d'être contaminées sont les céréales comme le maïs, le triticale, le blé, le seigle ou l'avoine. Les trichothécènes sont thermostables ; on peut donc les retrouver dans des produits finis comme la farine, le pain, les gâteaux secs ou les pâtes.

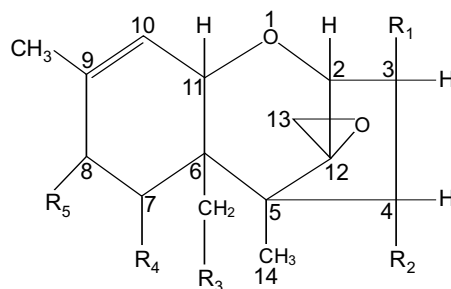
Propriétés physico-chimiques

Les trichothécènes appartiennent au groupe des sesquiterpénoïdes qui possèdent un squelette tricyclique formé par un cyclopentane, un cyclohexane, un cycle à six chaînons oxygénés et quatre groupements méthyles. Ce squelette est appelé trichothécane. Tous les trichothécènes naturels possèdent une double liaison (ou pont oléfinique) en C_{9,10} ainsi qu'un groupement époxy en C_{12,13} caractéristique des 12,13 époxy-trichothécènes.

On classe les trichothécènes en 4 groupes, les groupes A et B (figure 4) étant les plus importants en termes de prévalence naturelle :

- **Groupe A** : constitué par les trichothécènes qui n'ont pas de fonction cétone en C₈. Les plus importants sont la toxine T-2, la toxine HT-2 et le diacétoxyscirpénol (DAS) ;
- **Groupe B** : constitué par les trichothécènes ayant une fonction cétone en C₈. Les plus importants sont le déoxynivalénol (DON) et ses formes acétylées, le nivalénol (NIV), et la fusarénone-X (FX) ;
- **Groupe C** : constitué par les trichothécènes ayant un époxyde supplémentaire en C₇ comme la crotocine ;
- **Groupe D** : constitué par les trichothécènes ayant un macrocycle entre C₄ et C₁₅. Les plus importants sont les verrucarines, les roridines et les satratoxines.

Figure 4 : structure chimique générale des principaux trichothécènes des groupes A et B.



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Toxine T-2	OH	CH ₃ COO ⁻	CH ₃ COO ⁻	H	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ COO ⁻
DAS	OH	CH ₃ COO ⁻	CH ₃ COO ⁻	H	H
DON	OH	H ₂	OH	OH	O
NIV	OH	OH	OH	OH	O

La toxine T-2 est produite par de nombreuses espèces de *Fusarium*, en particulier *F. tricinctum*, *F. sporotrichioides*, *F. poae*, *F. solani* et *F. equiseti* :

- formule brute : $C_{24}H_{34}O_9$,
- poids moléculaire : 466,50 g/mol,
- soluble dans les solvants organiques polaires comme l'acétone ou l'acétonitrile,
- stable dans des solvants comme l'acétate d'éthyle, quelles que soient les conditions de stockage, de -18 °C à $+40\text{ °C}$.

La toxine HT-2 est produite par de nombreuses espèces de *Fusarium*, en particulier *F. sporotrichioides* et *F. poae* :

- formule brute : $C_{22}H_{32}O_8$,
- poids moléculaire : 424,5 g/mol,
- soluble dans les solvants organiques polaires,
- stable dans différents solvants comme l'acétate d'éthyle, quelles que soient les conditions de stockage, de -18 °C à $+40\text{ °C}$.

Le diacétoxyscirpénol (DAS) est produit par différentes espèces de *Fusarium* dont les principales sont *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*, *F. solani* et *F. equiseti* :

- formule brute : $C_{19}H_{26}O_7$,
- poids moléculaire : 366,41 g/mol,
- incolore, cristallisable et soluble dans les solvants polaires,
- peu soluble dans l'eau.

Le déoxynivalénole (DON), le trichothécène le plus répandu dans le monde, est produit par *F. graminearum* et *F. culmorum* :

- formule brute : $C_{15}H_{20}O_6$,
- poids moléculaire : 296,36 g/mol,
- soluble dans l'éthanol, le méthanol, l'acétate d'éthyle et l'eau,
- stable dans l'acétate d'éthyle à -18 °C .

Le déoxynivalénole acétylé (ADON), cette mycotoxine peut être présente sous la forme de deux dérivés acétylés, les 3 et 15 ADON, également produite par *F. graminearum* et *F. culmorum* :

- formule brute : $C_{17}H_{22}O_7$,
- poids moléculaire : 338,35 g/mol,

Le nivalénole (NIV) est produit par *F. graminearum* et *F. culmorum* :

- formule brute : $C_{15}H_{20}O_7$,
- poids moléculaire : 312,32 g/mol,
- soluble dans les solvants organiques polaires comme le méthanol, l'éthanol, l'acétate d'éthyle mais faiblement soluble dans l'eau,
- stable dans l'acétate d'éthyle à -18 °C .

La fusarénone X (FX) est produite par *F. crookwellense* et certaines souches de *F. graminearum* :

- formule brute : $C_{17}H_{22}O_8$,
- poids moléculaire : 338 g/mol,
- soluble dans le méthanol, l'acétate d'éthyle, l'eau mais insoluble dans le n-hexane et le n-pentane,
- chimiquement stable mais peut être hydrolysée en nivalénole par des bases.

Méthodes d'analyse

Le règlement (CE) n° 401/2006 de la Commission du 23 février 2006 fixe les modes de prélèvement d'échantillons et des méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en mycotoxines des denrées alimentaires.

La stratégie analytique développée pour les trichothécènes A diffère sensiblement de celle suivie pour les toxines du groupe B.

Pour les trichothécènes du groupe A (T-2 et HT-2), les quelques études inter-laboratoires ont clairement souligné la nécessité d'améliorer les techniques eu égard aux rendements d'extraction, la précision et l'exactitude des mesures. La disponibilité de matériels de référence et la mise en place d'études internationales comparatives accéléreront l'amélioration des méthodes.

Les immuno-essais (type ELISA) sont des méthodes de routine disponibles en dépistage pour T-2 et HT-2 dans les céréales. Les limites de détection sont bien adaptées aux concentrations généralement rencontrées dans ce type d'échantillon.

Concernant les méthodes physico-chimiques, les trichothécènes du groupe A ne peuvent pas être suivies par CLHP-UV étant donné l'absence de groupe cétonique en position C-8. L'approche par CPG est par conséquent la plus utilisée pour cette famille et la détection peut être assurée par détecteur à capture d'électrons (ECD) ou par spectrométrie de masse. Dans les céréales, les limites de performance pour T-2 et HT-2 en termes de quantification sont de l'ordre de 20 µg/kg lorsque la CPG-ECD est utilisée, le seuil étant significativement abaissé pour la CPG-SM (de l'ordre du µg/kg).

Pour les trichothécènes du groupe B (DON, NIV), des méthodes validées et reconnues sont disponibles, en particulier pour les céréales et les aliments pour animaux.

Les immuno-essais (type ELISA) permettent de disposer rapidement d'un résultat semi-quantitatif à partir d'échantillons sommairement purifiés. Les résultats sont moins probants lorsqu'il s'agit de matrices complexes, ce phénomène étant lié à la reconnaissance par l'anticorps d'analogues structuraux co-extraits. Par ailleurs, les méthodes basées sur la chromatographie couche mince restent encore assez communément utilisées en méthode de dépistage, en particulier dans les pays ne disposant pas facilement de CPG ou de CLHP, techniques indiscutablement plus performantes.

Les autres approches physico-chimiques nécessitent l'application de techniques de purification efficaces pour faciliter l'élimination des interférences matricielles. La chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à capture d'électrons, à un spectromètre de masse simple (MS) ou en tandem (MS/MS), constitue la méthode séparative la plus utilisée à condition que l'analyte ait été préalablement dérivé. L'approche analytique par CPG est parmi les techniques les plus sensibles notamment lorsque la spectrométrie de masse est utilisée après fluoroacylation des analytes. Cependant, si l'on se réfère aux résultats de campagnes d'essais d'inter-comparaison, il convient de souligner la variabilité des réponses quantitatives concernant DON, NIV, mais également HT-2 et T-2. Les problèmes analytiques concernent, outre les différentes sources de molécules de référence, la non-adéquation des étalons internes utilisés et la présence d'interférences matricielles desservant la spécificité du signal. Les limites de quantification sont de l'ordre de 20 µg/kg dans les céréales brutes et de 100 à 200 µg/kg dans les produits transformés.

Facteurs influençant la teneur en trichothécènes dans les denrées

Les données disponibles portent principalement sur le DON.

Au champ, il peut y avoir une relation entre le développement de certains *Fusarium* et la teneur en trichothécènes. La teneur en DON du blé tendre (*Triticum aestivum*) et des autres céréales est principalement sous la dépendance du climat, à savoir la pluie au moment de la floraison et accessoirement dans les semaines qui suivent. D'autres facteurs, que l'on peut qualifier de « secondaires » peuvent moduler l'effet du climat. Parmi ces facteurs, on peut citer la présence de reliquats (tige, feuilles, ...) de la récolte précédente, contaminés par les *Fusarium* (celle-ci est liée à la rotation culturale et au travail du sol), la sensibilité à la fusariose de la variété de céréale cultivée ou la protection phytosanitaire utilisée (triazoles *versus* strobilurines).

À côté des facteurs de variation au champ de la teneur en trichothécènes d'un lot de céréales, figurent des facteurs de variations péri- et post-récolte. Parmi eux, on peut citer la qualité du nettoyage des grains et les conditions de pré-séchage du maïs.

Lors du stockage des céréales, l'humidité des lots est en général trop faible pour le développement des *Fusarium* et la production de trichothécènes. Une exception concerne le stockage du maïs en cribs, installation qui maintient longtemps les épis dans des conditions de forte humidité.

La première étape des procédés technologiques est le nettoyage des grains qui permet de réduire la teneur en trichothécènes, l'essentiel de la contamination restant dans les « issues de nettoyage ». Ainsi, en meunerie et en semoulerie, la teneur en trichothécènes sera plus élevée dans les sons que dans les farines et les semoules.

L'amidonnerie de maïs a la particularité de comporter une phase de trempage qui solubilise certains trichothécènes comme le DON. Dans ces conditions, leurs teneurs dans le gluten et l'amidon sont plus faibles.

En malterie, des trichothécènes peuvent être produits lors de la phase de germination mais il convient de noter que les trichothécènes hydrosolubles passent en grande partie dans les eaux de trempage. Dans les opérations de brasserie, le DON présent dans le malt passe préférentiellement dans la bière et accessoirement dans les drêches.

Effets chez l'homme

Les pathologies humaines les plus connues associées à une exposition à des trichothécènes sont l'Aleucie Toxique Alimentaire (ATA) décrite en Russie et la Stachybotryotoxicose en Europe. La « Moldy Corn Toxicosis » en Amérique du Nord et la « Red Mold Disease » ou « Akakabi byo disease » en Asie du Sud-Est provoquent les mêmes symptômes que les deux maladies précédentes. Ces pathologies sont caractérisées par des symptômes communs qui sont principalement des troubles hématologiques : thrombocytopenie, perturbation de l'hémostase, leucopénie et agranulocytose.

Devenir et propriétés toxicologiques

Trichothécènes du groupe A

La plupart des études toxicologiques ont été réalisées sur la toxine T-2. Cependant, on estime que la toxicité de HT-2 est équivalente à celle de la T-2.

Chez l'animal, la toxine T-2, injectée dans la lumière intestinale, passe rapidement dans le sang et se trouve métabolisée sous forme de toxine HT-2 et autres produits de désestérification. Elle est ensuite distribuée dans l'organisme où elle se localise préférentiellement dans les reins, le foie, la rate et la graisse. Elle traverse la barrière placentaire et peut se retrouver dans le thymus et la rate du fœtus. Elle est excrétée par l'urine, la bile et les fèces.

Les études de toxicité aiguë ont permis de déterminer la DL₅₀ de la toxine T-2 chez les rongeurs qui est comprise entre 5 et 10 mg/kg p.c. Les rats nouveau-nés semblent plus sensibles que les adultes. Les effets observés lors d'étude de la toxicité aiguë chez l'animal concernent principalement des symptômes non spécifiques comme la perte de poids, l'inappétence, des dermatites, des vomissements, des diarrhées, des hémorragies et des nécroses de l'épithélium gastrique et intestinal et de la moelle osseuse, de la rate, des testicules et des ovaires. L'organe cible de la toxicité de la toxine T-2, après exposition à une ou plusieurs doses dans les études de toxicité aiguë, est le tissu hématopoïétique, au sein de la moelle osseuse.

Les études de toxicité subchronique chez le rat, la souris, le porc et le singe rapportent des modifications hématologiques et immunologiques.

Dans les études de toxicité chronique et de cancérogenèse, des lésions de l'œsophage ont été rapportées chez la souris et le rat ; une augmentation de l'incidence d'adénomes pulmonaires et hépatocellulaires et une hyperplasie de l'épithélium gastrique dose-dépendante ont également été décrites aux plus fortes doses testées.

Les études visant à rechercher des effets génotoxiques de ces trichothécènes présentent des résultats contradictoires et ne permettent pas de conclure quant à leur génotoxicité.

Les études sur la reproduction ont mis en évidence une toxicité maternelle et une fœtotoxicité.

Concernant les effets immunotoxiques, l'exposition aux trichothécènes du groupe A induit une diminution du nombre de splénocytes, de thymocytes, de lymphocytes circulants et une déplétion des lymphocytes B dans le foie fœtal de souris. La stimulation *in vivo* des lymphocytes B et T de souris est inhibée de façon réversible. La résistance à l'infection serait altérée après intoxication. Les effets immunotoxiques de la toxine T-2 sont attribués à la déplétion du nombre de lymphocytes T due au dysfonctionnement des macrophages liés aux lymphocytes T.

Chez l'homme, la production *in vitro* d'immunoglobulines IgA, IgG et IgM est inhibée par la toxine T-2 et la fonctionnalité des macrophages est également perturbée. La prolifération des lymphocytes est inhibée par la toxine T-2 ainsi que la maturation des cellules dendritiques présentatrices de l'antigène.

Les effets hématotoxiques se manifestent par des leucopénies qui apparaissent après exposition à ces trichothécènes chez de nombreuses espèces (chat, souris, cobaye, rat, lapin, mouton et porc). De nombreuses études *in vivo* font état d'anémie, d'atteinte de la concentration en hémoglobine et de l'hématocrite chez ces

mêmes espèces. L'apparition d'hémorragies est un des symptômes caractéristiques des intoxications par les trichothécènes chez le rat, la souris, le porc, les bovins, les ovins et l'homme. Ces hémorragies sont dues à une diminution du nombre de plaquettes dans le sang circulant et à des dysfonctionnements de celles-ci.

La myélotoxicité concerne les troubles induits sur la formation des cellules sanguines lors de l'hématopoïèse qui se déroule dans la moelle osseuse. Les atteintes de la moelle osseuse par ces trichothécènes ont été rapportées chez plusieurs espèces (mouton, souris, poulet et cobaye). Elles sont caractérisées par des hypoplasies résultant de la nécrose des cellules médullaires. Dans tous les cas, la toxine T-2 est le plus myélotoxique des trichothécènes.

Trichothécènes du groupe B

On ne dispose pas de données concernant le devenir des trichothécènes du groupe B chez l'homme. Chez l'animal, la biodisponibilité des trichothécènes est extrêmement variable selon les espèces animales, allant de moins de 10 % chez les ovins et la volaille à plus de 50 % chez le porc. Le métabolisme est intense, conduisant à une excrétion des trichothécènes libres ou conjugués par les urines, la bile et les fèces.

Les études de toxicité aiguë ont permis de déterminer la DL₅₀ du DON par voie orale, comprise entre 46 et 78 mg/kg p.c. chez la souris. Les effets toxiques observés dans les études de toxicité aiguë et subaiguë sont des vomissements, des refus de s'alimenter, des pertes de poids et des diarrhées. Après intoxication aiguë, une nécrose tissulaire est observée au niveau du tractus intestinal, de la moelle osseuse et des tissus lymphoïdes.

Lors des études de toxicité subchronique par voie orale, les effets indésirables observés sont une réduction de la consommation alimentaire, une diminution du gain de poids et des perturbations de certains paramètres sanguins dont le taux d'immunoglobulines sériques.

Une étude de toxicité chronique chez la souris met en évidence une diminution significative du gain de poids, une augmentation des IgA et des IgG (< 10 %) sériques pour les doses les plus élevées, une augmentation du poids du foie et des testicules ainsi qu'une diminution du poids de la rate. Aucune manifestation néoplasique ou préneoplasique n'a été observée lors de cette étude. La dose sans effet indésirable observé (NOAEL) est de 0,1 mg/kg p.c./j.

Les études réalisées sur les effets génotoxiques des trichothécènes du groupe B présentent des résultats contradictoires qui ne permettent pas de conclure sur le potentiel génotoxique de ces molécules.

Aucun effet neurotoxique direct induit par les trichothécènes du groupe B n'a été décrit. Il en est de même pour les effets sur la reproduction.

Concernant les effets immunotoxiques, l'exposition aux trichothécènes du groupe B induit une réduction du nombre des cellules des différentes lignées cellulaires immunitaires ainsi qu'une baisse de la résistance à l'infection.

Une diminution du nombre de cellules sanguines circulantes due à une myélotoxicité est également décrite avec les trichothécènes du groupe B. Cependant, ces troubles hématologiques semblent avoir une amplitude plus faible que ceux induits par les trichothécènes du groupe A. L'hypoplasie médullaire induite par les trichothécènes du groupe B est transitoire et le temps de régénération est variable. Le DON est le moins myélotoxique des trichothécènes étudiés.

Valeurs toxicologiques de référence

En 1993, le CIRC a classé les trichothécènes (T₂, DON et NIV) dans le groupe 3 (données disponibles insuffisantes chez l'animal et chez l'homme pour statuer sur leur cancérogénicité).

Toxine T-2 et toxine HT-2

Le JECFA et le SCF ont fixé une DJT commune pour les toxines T-2 et HT-2 à partir d'une étude réalisée chez le porc. Les effets toxiques pertinents décrits dans cette étude sont des effets immunotoxiques et hématotoxiques. C'est la plus faible dose avec effet indésirable observé (LOAEL) qui a été retenue, soit 0,029 mg/kg p.c./j. Cette valeur est considérée comme étant proche de la dose sans effet néfaste observé (NOAEL) dans la mesure où les effets observés sont subtils et réversibles. En conséquence, un facteur de sécurité de 500 (10x10x5) a été appliqué et la dose journalière tolérable provisoire (DJTP) des toxines T-2 et HT-2 est de 0,06 µg/kg p.c./j.

DON

Le JECFA et le SCF ont retenu la dose sans effet indésirable observé (NOAEL) de 0,1 mg/kg p.c./j déterminée dans une étude de toxicité chronique réalisée chez la souris. L'effet toxique pertinent identifié dans cette étude est une diminution du gain de poids entraînant un retard de croissance. Un facteur de sécurité de 100 (10x10) est appliqué pour obtenir la dose journalière tolérable (DJT) de 1 µg/kg p.c./j.

NIV

Aucune étude n'ayant permis de déterminer une dose sans effet, le SCF a retenu la plus faible dose de l'étude de toxicité chronique chez la souris induisant un effet indésirable (LOAEL : 0,7 mg/kg p.c./j). En appliquant un facteur de sécurité de 1000 (10x10x10) à cette dose, on obtient la dose journalière tolérable provisoire (DJTP) de 0,7 µg/kg p.c./j.

Exposition humaine aux trichothécènes par voie alimentaire

L'étude de la ration alimentaire totale (EAT) entreprise en 2000, afin de connaître le niveau de consommation et d'exposition de la population française aux trichothécènes à partir d'aliments « prêts à consommer » montre que, sur les 238 échantillons analysés, seules les toxines HT-2 et fusarénone X (2 échantillons sur 238), NIV (3 échantillons) et DON (31 échantillons) ont été retrouvées à des niveaux de contamination supérieurs à la limite de détection.

L'exposition moyenne et des forts consommateurs (95^e percentile) adultes et enfants de la population française générale (tableau 8) et de la population végétarienne (tableau 9) a été estimée pour le DON et le NIV. Les niveaux d'exposition dans cette étude sont du même ordre de grandeur que ceux de la Tâche SCOOP européenne⁽⁸⁾ réalisée en 2003.

Tableau 8 : exposition de la population générale française aux trichothécènes DON et NIV (EAT, 2004⁽⁹⁾) et comparaison avec les résultats de la Tâche SCOOP 3.2.10 (2003) incluant les toxines HT-2 et T-2.

	Exposition des adultes (15 ans et +) (µg/kg p.c./j)				Exposition des enfants (3-14 ans) (µg/kg p.c./j)			
	Moyenne (EAT)	P95 (EAT)	% de la DJT pour P95 (EAT)	Moyenne (Tâche SCOOP)	Moyenne (EAT)	P95 (EAT)	% de la DJT pour P95 (EAT)	Moyenne (Tâche SCOOP)
DON	0,281	0,571	57 %	0,460	0,451	0,929	93 %	0,730
NIV	0,088	0,157	23 %	0,060	0,163	0,300	43 %	0,090
HT-2+T-2				0,075				0,111

Tableau 9 : exposition de la population végétarienne française aux trichothécènes DON et NIV (EAT, 2004⁽¹⁰⁾).

	Exposition de la population végétarienne (15 ans et +) (µg/kg p.c./j)								
	Lactovégétariens			Ovolactovégétariens			Végétaliens/macrobiotes		
	Moyenne	P95	% de la DJT pour P95	Moyenne	P95	% de la DJT pour P95	Moyenne	P95	% de la DJT pour P95
DON	0,320	0,720	72 %	0,360	0,840	84 %	0,410	0,960	96 %
NIV	0,120	0,190	27 %	0,120	0,230	33 %	0,210	0,420	60 %

(8) SCOOP report on Tasks 3.2.10. (2003). Collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU members states.

(9) Étude de l'alimentation totale française. Mycotoxines, minéraux et éléments traces. (2004). Rapport INRA/DGAL. Coordinateur Jean-Charles Leblanc.

Le principal vecteur d'exposition au **DON** pour les deux groupes de population est représenté à plus de 90 % par les produits dérivés des céréales et en particulier le pain et les biscottes (entre 45 et 70 %). Les autres vecteurs non céréaliers contribuent à moins de 2 % de l'exposition alimentaire totale.

Le principal vecteur d'exposition au **NIV** pour les deux groupes de population est représenté à environ 80 % par les produits dérivés des céréales et en particulier par le pain et les biscottes (entre 19 et 32 %) ; les autres vecteurs non céréaliers contribuent à des niveaux inférieurs à 4 % de l'exposition alimentaire totale.

Effets sur la santé animale et transfert dans les produits animaux

Les porcins

Trichothécènes du groupe A

Chez le porc, on dispose essentiellement de résultats d'essais de toxicité aiguë des trichothécènes du groupe A, notamment de T-2 et diacétoxyscirpénol, (DAS).

La consommation et la vitesse de croissance des porcs sont diminuées lorsque leur aliment est contaminé par la toxine T-2 ou le DAS, sans que l'efficacité alimentaire soit affectée. Ces effets apparaissent avec un aliment qui renferme moins de 1 mg de toxine T-2/kg, et les animaux refusent totalement de s'alimenter et perdent du poids lorsque cette teneur est de 16 mg/kg.

- **Signes cliniques** : l'injection intraveineuse de toxine T-2 ou de DAS provoque très rapidement vomissements, anurie, apathie, difficultés respiratoires, parésie postérieure, léthargie, et la mort du porc peut survenir après quelques heures. Ces effets s'observent à des doses plus faibles pour le DAS que pour la toxine T-2. Chez le porc, la DL₅₀ du DAS, de $0,38 \pm 0,04$ mg/kg p.c., est environ 3 fois moins élevée que celle de toxine T-2. Les symptômes sont moins graves lors d'une contamination chronique par un aliment contaminé : les porcs deviennent léthargiques et semblent avoir froid. À partir d'une teneur de l'aliment de 4 mg de toxine T-2/kg, une nécrose et une ulcération de l'épithélium de la face et du prépuce des animaux se développent après plusieurs jours.
- **Effets sur la circulation sanguine et lésions tissulaires** : l'injection de toxine T-2 provoque un état de choc circulatoire avec chute du débit cardiaque et de la pression artérielle. L'absence d'hyperventilation compensatoire suggère que la toxine T-2 agirait aussi sur le système nerveux. Le débit sanguin diminue dans les reins et l'estomac, et à un degré moindre dans le cerveau et le cervelet, mais augmente dans le foie, ce qui pourrait favoriser la détoxification et l'élimination de la toxine et de ses métabolites.
La consommation d'un aliment contaminé par les trichothécènes A entraîne une congestion du tube digestif et de la vésicule biliaire, mais pas d'hémorragie. L'injection intraveineuse de toxine T-2 ou de DAS provoque un œdème et des hémorragies dans de nombreux organes, notamment l'estomac, le jéjunum, l'iléon et le colon, les nodules lymphatiques, les tissus lymphoïdes, le pancréas, les surrénales, la vésicule biliaire, le myocarde. Une dégénérescence et une nécrose cellulaires graves sont constatées dans ces organes : les trichothécènes A sont des agents cytotoxiques puissants des systèmes digestif, lymphoïde et hématologique et lèsent aussi bien les cellules à division rapide que celles qui ont peu ou pas de renouvellement.
- **Effets sur l'hématologie et l'immunité** : à forte dose, toxine T-2 et DAS affectent le taux sanguin de certains métabolites et enzymes, sans doute en relation avec l'absence d'émission d'urine qui résulte de la baisse de pression artérielle. Ils inhibent la production de leucocytes. La présence accrue de globules rouges présentant des anomalies morphologiques suggère une destruction progressive des éléments hématopoïétiques de la moelle osseuse. La consommation d'aliments contaminés par T-2 réduit la prolifération lymphocytaire et la réponse vaccinale des porcs.
- **Effets sur la reproduction** : il existe très peu d'essais sur les effets toxiques de toxine T-2 chez les truies, et tous ne portent que sur quelques individus. Cette toxine semble affecter leur fertilité. Elle est retrouvée dans le lait et réduit la survie post-natale des porcelets.

L'estimation de la demi-vie de la toxine T-2 dans le sang varie de 5 à 90 minutes. La toxine parente n'est plus détectée dans le sang 2 heures après son injection. Ce sont principalement ses dérivés glucuronides, et dans une moindre mesure ses dérivés libres, qui sont retrouvés. La principale voie d'élimination est l'urine dans laquelle la concentration maximale en métabolites de toxine T-2 est atteinte entre 1 et 2 heures après son administration par sonde gastrique. Les métabolites de toxine T-2 présents au niveau intestinal peuvent être hydrolysés par la microflore et une grande partie des formes actives pourrait être réabsorbée et subir un cycle entéro-hépatique. La clairance tissulaire de T-2 est de 57 à 92 mL/kg/min. Ce sont les organes lymphoïdes, la rate et les nodules lymphatiques qui contiennent les teneurs les plus élevées. On en retrouve davantage dans les reins que dans

les muscles, alors qu'elle n'est pas détectée dans le foie ou dans le tissu adipeux. Seuls de très faibles niveaux de contamination sont mesurés dans les tissus des porcs 18 heures après l'administration de T-2, ce qui limite les risques de toxicité de relais pour le consommateur.

La demi-vie du DAS chez le porc est entre 8 et 151 minutes, et sa clairance entre 27 et 192 ml/kg/min. Le DAS est absorbé et métabolisé très rapidement, et sa métabolisation se produit dès l'estomac. Des métabolites dérivés glucuronides sont vraisemblablement formés, mais ils n'ont pas encore été recherchés. Le DAS est éliminé dans l'urine, et surtout dans les fèces. Huit heures après son injection, des résidus sont encore retrouvés à l'état de traces dans tous les tissus du porc où ils ont été recherchés, la rate et les nodules lymphatiques ayant les teneurs les plus élevées.

Trichothécènes du groupe B

L'effet le plus manifeste des trichothécènes de groupe B est une baisse de la consommation d'aliment. Chez le porc, la consommation n'est généralement pas affectée lorsque la teneur de l'aliment n'excède pas 1 mg DON/kg. L'appellation « vomitoxine » du DON n'est pas appropriée car les vomissements n'apparaissent que pour des teneurs exceptionnelles, supérieures à 15 mg/kg d'aliment. Les effets du DON, et plus généralement des trichothécènes, sur la baisse de la consommation et les vomissements chez les porcs semblent faire intervenir certains neuromédiateurs.

Les principaux effets observés chez les porcs liés à la présence de DON dans l'alimentation sont les suivants :

- **Effets sur les performances de croissance** : parallèlement à la réduction de la consommation, la présence de DON dans l'aliment diminue la vitesse de croissance des porcs. Cet effet est d'autant plus important que la teneur en DON du régime est élevée et, comme pour la consommation, il s'atténue généralement à partir de la 2^e semaine lorsque les aliments renferment moins de 4 mg de DON/kg.
- **Effets sur la reproduction** : peu d'études sont consacrées aux effets du DON sur la reproduction. Les conséquences du DON sur les réserves corporelles des truies sont directement liées à son effet sur la consommation alimentaire. Le gain de poids de gestation est plus faible et la perte pondérale de lactation plus élevée lorsque le DON réduit leur consommation.
- **Effets sur les paramètres sanguins** : les répercussions de la consommation de DON par le porc sur les éléments figurés du sang, le taux d'hématocrite, la teneur en hémoglobine ou les niveaux circulants de différents métabolites, hormones ou enzymes sont très limitées. À la concentration de 3 mg/kg d'aliment, des modifications épisodiques du nombre d'hématies ou de plaquettes, de l'hématocrite et une augmentation du nombre de leucocytes sont observées.
- **Effets sur la fonction immunitaire** : la fonction immunitaire peut être affectée par le DON. Pour une exposition à des teneurs supérieures à 1 mg/kg d'aliment, la teneur en immunoglobulines A (IgA) est généralement augmentée et l'effet disparaît lorsque les animaux reçoivent un aliment sain. Par contre les données paraissent contradictoires pour les IgG et IgM dont les teneurs peuvent être diminuées ou non suivant les études. La capacité de prolifération des lymphocytes peut également être accrue dans certains essais et stable dans d'autres (pour des teneurs de 2 à 5 mg/kg d'aliment).

Chez le porc, le devenir du DON est caractérisé par une biodisponibilité systémique de 55 % et une demi-vie de 3,9 heures. L'injection de 1 mg DON/kg p.c. à des porcs montre, trois heures après l'injection, une concentration plus élevée dans le plasma, les reins et le foie que dans les autres organes. L'élimination des trichothécènes de l'organisme est relativement rapide. Il n'y a pas d'accumulation tissulaire de DON et le volume de distribution élevé de la toxine chez le porc serait dû à sa large répartition dans l'organisme, ainsi qu'à une séquestration rapide, mais limitée et temporaire, dans certains tissus. Seules des traces de DON sont encore retrouvées dans quelques tissus et organes 12 à 24 heures après qu'ils ne puissent plus accéder à leur aliment, c'est à dire dans les conditions normales d'abattage des porcs.

Les volailles

Les signes nerveux et les diarrhées observés lors d'intoxications aiguës par les trichothécènes (exposition à plusieurs mg/kg de poids vif) ne sont pas décrits dans les formes chroniques les plus fréquemment observées dans les conditions d'élevage. L'intoxication se manifeste alors par une altération des indices de performance (chute du GMQ⁽¹⁰⁾, augmentation de l'indice de consommation, chute du taux de ponte et diminution de

(10) GMQ : Gain Moyen Quotidien

l'éclosabilité) souvent accompagnée de lésions radiomimétiques, principalement au niveau du bec et de la langue. Ces effets sont observés lors d'ingestion de 2 à 10 mg de toxine T-2/kg d'aliment ou de 5 à 20 mg de DON/kg d'aliment pendant au moins 2 semaines. Les effets de doses inférieures sont contradictoires, fortement liés à l'espèce et à l'âge des animaux (les jeunes sont deux fois plus sensibles que les adultes) mais aussi au type de production.

L'absorption par voie orale des trichothécènes est médiocre (< 10 % après 6 heures). Leur élimination se fait majoritairement par voie fécale après métabolisation. Les quantités résiduelles retrouvées augmentent lors d'exposition prolongée. Les niveaux de contamination observés sont 2 à 10 fois supérieurs dans le foie et les reins que dans les muscles. L'excrétion dans les œufs représente moins de 1 % de la dose ingérée, elle se fait essentiellement sous forme métabolisée et concerne le jaune, le blanc et les enveloppes.

Les ruminants

Peu d'études ont été réalisées sur les effets des trichothécènes chez les ruminants. Une diminution de la consommation alimentaire est observée dans certaines études alors que dans d'autres, ni l'ingestion d'aliment, ni la production de lait ne sont modifiées chez des vaches dont la ration alimentaire est contaminée par des trichothécènes. Des résultats identiques ont été observés chez les moutons en croissance.

Les microorganismes du rumen sont capables de dé-époxyder efficacement le DON en DOM-1 (dé-époxy-DON), entraînant une diminution marquée de sa toxicité chez le ruminant. Les bioconversions microbiennes des trichothécènes A sont plus complexes et font intervenir des dé-acétylations et des dé-estérifications en plus des dé-époxydations.

La biodisponibilité du DON mesurée chez le mouton est faible, de l'ordre de 7,5 % et sa demi-vie est estimée entre 1,6 et 2 heures. DON et DOM-1 sont complètement éliminés en 30 heures.

Seule la présence de DOM-1 à des doses extrêmement faibles a pu être détectée dans le lait après l'ingestion de DON par les ruminants.

En conclusion, grâce à la présence du rumen et de l'écosystème microbien qui l'habite, les ruminants semblent assez bien protégés contre les trichothécènes. En outre, le transfert de DON dans le lait peut être considéré comme négligeable. La présence signalée de DOM-1 dans le lait ne présente pas de risque pour le consommateur compte tenu de la faible toxicité de ce métabolite.

Les poissons

Le blé et le maïs pouvant être incorporés dans les aliments pour poissons, tels qu'ils ou après transformation, les poissons sont susceptibles d'être exposés à des trichothécènes. Cependant, aucun cas de toxicité aux trichothécènes n'a été rapporté en pisciculture. En revanche, des études expérimentales ont montré que la toxine T-2 est immunosuppressive chez le poisson *Tilapia*. Par ailleurs, la truite est sensible au DON à partir de 1 mg/kg d'aliment et à la toxine T-2 à partir de 5 mg/kg d'aliment et cette toxine est toxique chez le poisson-chat à partir de 1,25 mg/kg d'aliment.

Les animaux de compagnie et de loisirs

Pour cette catégorie d'animaux dont l'espérance de vie est généralement longue, c'est le risque lié à la consommation durable d'aliments contaminés qui doit faire l'objet de la surveillance la plus stricte.

• Les équidés

Les chevaux, initialement considérés comme relativement résistants à la contamination par le DON, semblent, lors de consommation chronique, présenter une certaine sensibilité avec une baisse notable de l'ingéré alimentaire et une perte significative de poids dès la consommation d'une dose de DON supérieure à 40 mg/animal/j. La disparité des niveaux de contamination associés à l'observation de désordres cliniques tient sans doute à des synergies entre les diverses mycotoxines produites par le *Fusarium*, généralement présentes et non systématiquement recherchées. En consommation chronique, compte tenu des quantités de céréales potentiellement consommées par les chevaux (élevage et compétition notamment), un seuil critique de 4 mg de DON /kg d'aliment semble devoir ne pas être dépassé dans les céréales à destination des équidés.

En ce qui concerne la toxine T-2, la rareté des cas rapportés rend plus aléatoire la définition d'un seuil critique qui en tout état de cause ne devrait pas dépasser 7 mg/animal/j, soit 0,7 mg/kg d'aliment.

• Les carnivores domestiques

La plus fréquente des toxines fusariennes, le DON, a un niveau de toxicité du même ordre pour le chien que pour le porc, espèce considérée comme la plus sensible. Le seuil de sensibilité serait moindre pour le chat. Cependant, les vomissements surviennent chez les deux espèces de carnivores pour un niveau de contamination de l'ordre de 8 à 10 mg de DON par kg d'aliment. La baisse d'ingestion alimentaire peut survenir pour des valeurs plus basses en fonction des individus. L'absence de neutralisation de cette mycotoxine lors du procédé habituel de fabrication des aliments pour carnivores domestiques et la consommation en continu d'un même aliment demandent une grande vigilance de la part des industriels vis-à-vis des approvisionnements en céréales et dérivés céréaliers. On peut estimer le seuil de détérioration du niveau de consommation alimentaire sur une courte période d'alimentation à environ 4,5 mg de DON par kg d'aliment chez le chien et à 7,7 mg de DON par kg d'aliment chez le chat. En consommation chronique, un seuil critique de 4 mg/kg de DON semble devoir ne pas être dépassé dans les conditions pratiques d'alimentation des deux espèces de carnivores. La dose sans effet a été estimée à 0,3 mg/kg p.c./j.

Réglementation

Dans le cadre du 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, des teneurs maximales ont été fixées pour le DON (tableau 10). Aucune teneur n'a été fixée pour NIV, T-2 et HT-2 dans les denrées alimentaires. La fixation de ces teneurs maximales a été reportée au plus tard au 1^{er} juillet 2007 afin de collecter davantage de données sur la présence de ces toxines dans les produits végétaux.

Par ailleurs, aucune teneur maximale en trichothécènes n'est fixée dans les matières premières et les aliments pour animaux. Cependant, la Commission recommande⁽¹¹⁾ d'appliquer des teneurs maximales en DON dans les matières premières et aliments destinés à l'alimentation animale.

Tableau 10 : teneurs maximales en DON dans les denrées alimentaires exprimées en µg/kg.

Produit	Teneur maximale en µg/kg
Céréales brutes (sauf riz) autres que le blé dur, l'avoine et le maïs	1 250
Blé dur et avoine bruts	1 750
Maïs brut	1 750 ⁽¹⁾
Céréales destinées à la consommation humaine directe, Farine de céréales (y compris la farine de maïs, le gruau de maïs et le maïs moulu), son et germe	750
Pain, pâtisseries, biscuits, collations aux céréales et céréales pour petit déjeuner	500
Pâtes (sèches)	750
Préparations à base de céréales et aliments pour bébés destinés aux nourrissons et enfants en bas âge	200

(1) la teneur est applicable au 1^{er} Juillet 2007.

Données de contamination

Dans le cadre des plans de surveillance et de contrôle des services de l'État, différents trichothécènes ont été recherchés sur des céréales brutes (2000-2004) ou des aliments prêts à consommer (1998-2004).

T-2, HT-2, DAS

La contamination en T-2, HT-2 et DAS a été recherchée dans les céréales brutes (blé, orge, maïs) prélevées au champ ou en silo sur plus de 570 échantillons. Plus de 95 % des échantillons présentent des teneurs inférieures à la LOQ de 20 µg/kg.

(11) Recommandation 2006/576/CE de la Commission du 17 août 2006 concernant la présence de déoxynivalénol, de zéaralénone, d'ochratoxine A, des toxines T-2 et HT-2 et de fumonisines dans les produits destinés à l'alimentation animale.

NIV

Plus de 75 % des échantillons de céréales brutes présentent des teneurs en NIV inférieures à la LOQ (20 µg/kg). La contamination moyenne est comprise entre 12 et 36 µg/kg, avec des maximums pouvant atteindre 485 µg/kg (cas du maïs prélevé au champ).

DON

Les analyses faites en sortie de champ en 2000-2002 montrent une contamination plus importante des maïs (751 µg/kg en moyenne, avec des teneurs pouvant atteindre 8850 µg/kg) que des blés (358 µg/kg en moyenne). Les analyses faites en sortie de silo en 2003-2004 ne confirment pas cette différence (respectivement 148 µg/kg pour le maïs et 415 µg/kg pour le blé). Il est à noter que 13 % des échantillons de maïs prélevés au champ présentent des teneurs supérieures à la future limite réglementaire (1750 µg/kg, voir tableau 10).

En ce qui concerne les produits prêts à consommer à base de céréales, les semoules et farines de blé et de maïs, ainsi que le seigle et les produits à base de céréales destinés aux enfants en bas-âge sont les produits les plus contaminés par le DON, avec des teneurs respectives de 184 µg/kg, 175 µg/kg, 144 µg/kg et 140 µg/kg. Les produits à base de céréales destinés aux enfants en bas-âge sont particulièrement à surveiller : en effet, 22 % des échantillons (soit 4 sur 18) ont présenté des teneurs supérieures à la limite réglementaire.

Conclusion

Les trichothécènes sont des mycotoxines produites par de nombreuses espèces de *Fusarium*. Plus de 160 trichothécènes ont été identifiés, classés en 4 groupes selon leur structure chimique. Les principales sont les toxines T-2 et HT-2 (groupe A), ainsi que le NIV et le DON (groupe B), ce dernier étant le plus fréquent et le plus abondant. Les trichothécènes contaminant l'alimentation de l'homme et des animaux sont principalement retrouvés dans les céréales et produits dérivés. L'exposition humaine via la consommation de produits animaux provenant d'élevages exposés est faible.

Les trichothécènes du groupe A pourraient induire lors d'intoxication chronique des perturbations de la formule sanguine et de la fonction immunitaire. Il convient de s'interroger sur les effets d'une exposition à de faibles doses de ces mycotoxines. Les trichothécènes du groupe B provoquent principalement chez le porc des baisses de consommation alimentaire avec pour conséquence une réduction des performances zootechniques.

Il serait souhaitable que des études toxicologiques soient réalisées selon les lignes directrices reconnues internationalement afin de conforter les doses journalières tolérables fixées en 2001 et 2002 sur le fondement d'études toxicologiques incomplètes. Il serait aussi intéressant d'établir le différentiel toxique entre les différents trichothécènes. Des études devraient également être conduites pour améliorer les connaissances toxicologiques des associations de toxines, notamment des trichothécènes du groupe B et de la zéaralénone.

La Commission européenne a publié un règlement qui fixe des limites maximales en DON dans les matières premières et les denrées destinées à l'alimentation humaine. Toutefois, il convient de développer des méthodes de multidétection rapides et compatibles avec les limites réglementaires, qui puissent être utilisées dans les auto-contrôles.

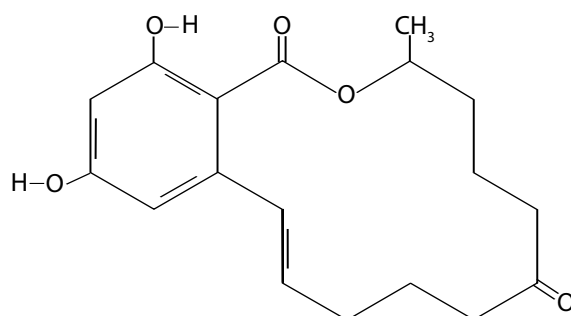
Dans le cadre des plans de surveillance et de contrôle, il conviendrait de rechercher les teneurs en toxines T-2 et HT-2 dans les produits céréaliers avec des limites analytiques permettant l'estimation de l'exposition.

La zéaralène est une mycotoxine ayant des propriétés œstrogéniques, produite par plusieurs espèces de moisissures du genre *Fusarium* se développant dans les céréales (maïs, orge, blé, riz, avoine...), principalement au champ (flore du champ), lors du stockage du maïs en cribs ou dans l'orge dans la phase de germination et au cours du maltage. Les principales espèces de *Fusarium* productrices appartiennent aux genres *graminearum*, *culmorum*, *equiseti*. Toutes les souches ne sont pas productrices de zéaralène.

Propriétés physico-chimiques

La zéaralène a été identifiée comme une lactone de l'acide résorcylique (RAL). Sa formule est donnée dans la Figure 5.

Figure 5 : structure moléculaire de la zéaralène et ses dérivés.



Le noyau de la molécule, constitué par la lactone de l'acide résorcylique (zéaralane) caractérise toute une famille de produits naturels ou dérivés par synthèse chimique.

Les α et β zéaralénols, métabolites naturels, sont des produits du métabolisme animal ou humain. Ils peuvent être également détectés dans les céréales contaminées.

La molécule est très faiblement soluble dans l'eau et l'hexane ; sa solubilité augmente avec la polarité des solvants : benzène, chloroforme, acétate d'éthyle, acétonitrile, acétone, méthanol, éthanol.

Le maximum d'absorption dans l'UV à 274 nm, le plus caractéristique, est le plus souvent utilisé pour la détection UV. La molécule émet une fluorescence bleue avec un maximum d'émission à 450 nm lorsqu'elle est excitée entre 230 et 340 nm dans l'éthanol.

Méthodes d'analyse

Le règlement (CE) n° 401/2006 de la Commission du 23 février 2006 fixe les modes de prélèvement d'échantillons et des méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en mycotoxines des denrées alimentaires.

Plusieurs approches analytiques basées sur des techniques immunologiques (RIA ou ELISA s'appuyant sur des anticorps monoclonaux ou polyclonaux) ont été développées pour la détermination de la zéaralène dans les céréales ou le lait. La limite basse de performance de ces immuno-essais est de l'ordre de la dizaine à la centaine de $\mu\text{g}/\text{kg}$.

En termes de techniques physico-chimiques, la chromatographie couche mince est pratiquement abandonnée aujourd'hui au profit de la CLHP et la CPG. La séparation par chromatographie liquide, stratégie plus fréquente, utilise presque systématiquement le principe de la phase inverse (phase stationnaire de type C_{18} et phase mobile polaire typiquement $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$). Le principe de détection repose très fréquemment sur la détection

fluorimétrique mais également UV (longueur d'onde fixe ou variable). La sensibilité observée n'est pas égale selon les métabolites, et plutôt moins bonne pour les métabolites réduits (α -zéaralanol et β -zéaralanol). Les limites de quantification sont comprises entre 5 et 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Les techniques LC-MS (interface d'ionisation à pression atmosphérique) et GC-MS (après dérivation des analytes) permettent aujourd'hui de suivre simultanément la zéaralène et ses métabolites en alliant spécificité et sensibilité du signal.

Facteurs influençant la teneur en zéaralène dans les denrées

La zéaralène est produite en même temps que d'autres toxines (trichothécènes, fumonisines...) lors de l'exposition aux intempéries. Le stockage à 4°C augmente la production dans le maïs, céréale la plus fréquemment contaminée.

Dans les fractions de meunerie, la zéaralène présente des teneurs supérieures dans les sons et les issues par rapport à la farine. Dans les coproduits issus de l'amidonnerie, le gluten est plus contaminé que le grain (de 200 à 1 200 %). Les germes sont également très contaminés (de 80 à 522 % de la teneur des grains). En semoulerie de maïs, la concentration en zéaralène dans les germes atteint 2 à 3 fois celle des grains. Les sons apparaissent plus contaminés que les grains mais moins que les germes, alors que les gritz (semoule) sont peu contaminés.

Effets chez l'homme

On dispose de peu d'études. La zéaralène a été recherchée dans des échantillons d'endomètre humains. Dans 27 sur 32 prélèvements obtenus à partir d'adénocarcinomes de l'endomètre, ou dans 11 sur 19 prélèvements d'endomètres présentant une hyperplasie, il a été retrouvé respectivement 47,8 ($\pm 6,48$) et 167 ($\pm 17,69$) ng/ml. Dans des échantillons d'endomètre dont la prolifération était normale, la teneur en zéaralène était proche de la limite de détection.

Une étude portant sur la causalité de puberté précoce chez de jeunes enfants portoricains par la Food and Drug Administration (USA) a montré la présence de zéaralène et de ses métabolites dans le sang de ces sujets mais cette mycotoxine n'a pas été retrouvée dans les aliments suspectés. Cependant, cette étude présente des biais méthodologiques, d'autres perturbateurs endocriniens pouvant être impliqués.

Devenir et propriétés toxicologiques

Les différentes études de pharmacocinétique et de métabolisme montrent que la zéaralène est absorbée rapidement après administration orale et peut être métabolisée par le tissu intestinal de porcs et éventuellement de l'homme. Les métabolites suivants sont formés : α et β -zéaralénols et α et β -zéaralanols, qui subissent par la suite une glucurono-conjugaison. On observe une excrétion biliaire avec circulation entérohépatique chez le rat et la souris, alors que chez le porc en dépit d'une circulation entérohépatique démontrée de la zéaralène, c'est l'excrétion urinaire de la toxine qui prédomine. Il existe une seule donnée chez l'homme : celle-ci suggère que la zéaralène subit une excrétion urinaire. Chez l'homme, comme chez le porc, la zéaralène a été retrouvée dans l'urine sous forme du composé parent glucuronoconjugué et d' α -zéaralénol.

La zéaralène présente une faible toxicité aiguë après administration orale et intrapéritonéale chez la souris, le rat et le cobaye (4000 mg/kg p.c. <DL50 < 20 000 mg/kg p.c.).

Les études de toxicité subaiguë et subchronique (maximum 90 jours) permettent de montrer que les effets observés sur les animaux de laboratoire et domestiques dépendent des interactions de la zéaralène et de ses métabolites avec les récepteurs des œstrogènes. La NOEL chez le rat est égale à 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c./j, l'effet toxique retenu est une diminution du poids du corps.

Plusieurs études de toxicité chronique et de cancérogenèse ont permis de confirmer les effets œstrogéniques de la zéaralène.

Dans une étude chez la souris (104 semaines) soumise à des doses maximales de 18 mg/kg p.c./j, les effets observés chez les femelles sont des effets œstrogéniques dose-dépendants dans certains tissus (fibrose de l'utérus, canaux cystiques dans les glandes mammaires), ainsi qu'une myélofibrose au niveau de la moelle osseuse. Des adénomes hépatocellulaires, des adénomes et des carcinomes hypophysaires ont été observés à des doses supérieures aux concentrations provoquant des effets hormonaux et sont considérés comme consécutifs aux effets œstrogéniques de la zéaralène et l' α -zéaralénol.

Dans une étude menée chez le rat Wistar, une augmentation significative du poids du foie et de l'utérus et de la trabéculature du fémur ont été observées chez deux femelles à la dose de 3 mg/kg p.c./j. La NOEL est égale à 0,1 mg/kg p.c./j.

Une étude chez le rat Fisher exposé durant 103 semaines à 0, 1 ou 2 mg/kg p.c./j a montré une diminution dose-dépendante du gain de poids et du poids corporel moyen. Des lésions non-néoplasiques ont été observées dans les deux sexes pour les deux doses testées. Il s'agit d'une inflammation de la prostate, d'une atrophie testiculaire, de la présence de canaux cystiques dans les glandes mammaires des mâles et d'une augmentation de l'incidence des vacuolisations cytoplasmiques hépatocellulaires et des néphropathies chroniques progressives. Une augmentation de l'incidence des rétinopathies et des cataractes a été observée pour les faibles et fortes doses chez les mâles et pour les faibles doses chez les femelles. Aucune augmentation de l'incidence des tumeurs n'a été retrouvée.

Les études de génotoxicité donnent des résultats contradictoires. Le test d'Ames de mutation génique et le test de recombinaison génique chez *S. cerevisiae* sont négatifs. Par contre, la zéaralène induit un échange de chromatides sœurs, des aberrations chromosomiques et une polyploidie *in vitro* sur cellules CHO en l'absence d'activation métabolique. De nombreux adduits à l'ADN différents ont été retrouvés dans les reins et le foie de femelles souris BalB/c traitées par une dose unique de zéaralène (2 mg/kg p.c. par voie intrapéritonéale ou per os) après marquage au ³²P et dans les ovaires de souris après administration répétée (1 mg/kg p.c. aux jours 1, 5, 7, 9 et 10). Aucun adduit à l'ADN n'a pu être détecté dans les organes de rats Sprague-Dawley après administration par voie intrapéritonéale.

Les effets immunosuppresseurs de la zéaralène sont peu documentés. *In vitro* et à forte dose, on observe une inhibition de la prolifération lymphocytaire après stimulation par un mitogène et une augmentation de la production d'IL-2 et d'IL-5. *In vivo*, une légère diminution de la résistance à l'infection par *Listeria monocytogenes* a été décrite chez des souris B6C3F₁ exposées à 10 mg de zéaralène /kg p.c./j pendant 2 semaines. Après exposition à une dose plus faible (1,5 mg/kg p.c./j) pendant 6 semaines, aucune modification des paramètres immunologiques n'a été révélée.

La zéaralène induit des altérations au niveau du système reproducteur des animaux de laboratoire (souris, rat, cobaye, hamster, lapin) et des animaux domestiques. Des effets œstrogéniques variés tels qu'une diminution de la fertilité, une augmentation des résorptions embryolétales, une diminution de la taille des portées, des changements de poids des glandes surrénales, thyroïdes et hypophysaires ainsi que des changements de niveaux sériques de progestérone et d'œstradiol ont été observés chez la souris, le rat, le cobaye et le lapin. Toutefois, aucun effet tératogène n'a été rapporté. Les porcs et les moutons semblent plus sensibles que les rongeurs.

L'animal le plus pertinent pour étudier ces effets de la zéaralène est le porc. Dans une étude sur des truies exposées à 0, 40, 200 ou 400 µg/kg p.c./j de zéaralène, l'intervalle inter-œstrus augmente significativement. Une augmentation des concentrations plasmatiques en progestérone et une persistance prolongée du corps jaune ont été observées chez les truies ayant un cycle plus long. Une NOEL de 40 µg/kg p.c./j a pu être déduite de cette étude.

Dans une étude sur des truies pré-pubères exposées à 10 µg/kg p.c./j pendant 11 jours, une rougeur et une tuméfaction de la vulve, une tuméfaction mammaire, de nombreux follicules vésiculaires et des follicules cystiques au niveau des ovaires ont été observés. Chez les truies exposées à 2 µg/kg p.c./j pendant 21 jours, l'autopsie a révélé une augmentation du nombre de follicules vésiculaires sur les ovaires. Cependant, le très petit nombre d'animaux de cette étude demande que les résultats soient confirmés.

Plusieurs études *in vitro* ont montré que la zéaralène ainsi que certains de ses métabolites se lient de façon compétitive aux récepteurs aux œstrogènes (ER). Cette liaison à des récepteurs spécifiques a été démontrée dans l'utérus, les glandes mammaires, le foie et l'hypothalamus de différentes espèces. Les valeurs des liaisons aux ER dans les tissus et les cellules cibles se situaient entre 1 % et 10 % de celles de l'œstradiol (E₂). Par comparaison, l'α-zéaralanol apparaît comme ayant un taux de liaison supérieur et le β-zéaralanol un taux beaucoup plus faible. Le potentiel œstrogénique de la zéaralène par rapport à l'E₂ est de 0,001 mesuré par le test utéro-tropique chez la souris après administration orale. Son potentiel par rapport à E₂ est de 0,001 et 0,01 après administration sub-cutanée et topique respectivement, mesuré par le test de cornification vaginale pratiqué chez la souris.

Valeur toxicologique de référence

La zéaralène a été évaluée par le CIRC en 1993 qui l'a classée dans le groupe 3 (données insuffisantes chez l'animal et chez l'homme pour statuer sur sa cancérogénicité).

Le JECFA a fixé en 1999 une dose journalière tolérable provisoire (DJTP) égale à 0,5 µg/kg p.c./j sur la base d'une étude toxicologique réalisée sur le porc pendant 15 jours. L'effet toxique pertinent retenu est l'existence d'effet œstrogénique. La dose sans effet déduite de cette étude est égale à 40 µg/kg p.c./j. Le JECFA a considéré qu'un facteur de sécurité de 100 était suffisant au vu de la LOAEL de cette étude (200 µg/kg p.c./j) et de la DJT affectée à l'un des métabolites de la zéaralénone, l'-zéaralanol utilisé comme médicament vétérinaire (interdit en Europe).

Le SCF a fixé en 2000, une dose journalière tolérable provisoire (DJTP) égale à 0,2 µg/kg p.c./j sur la base de la même étude et des mêmes effets. Le facteur de sécurité appliqué est égal à 200 en raison du petit nombre d'études toxicologiques disponibles.

Exposition de l'homme à la zéaralénone par voie alimentaire

L'étude de la ration alimentaire totale (EAT) entreprise en 2000, afin de connaître le niveau de consommation et d'exposition de la population française à la zéaralénone à partir d'aliments « prêts à consommer » montre que, sur 245 échantillons d'aliments analysés, 5 (2 %) ont des niveaux de zéaralénone supérieurs à la limite de détection, dont 2 supérieurs à la limite maximale de 50 µg/kg fixée par la Commission européenne (céréales petit déjeuner de type muesli et pétales de maïs enrichis avec 200 µg/kg et 22 µg/kg, soja appertisé avec 53 µg/kg, graines de sésame avec 18 µg/kg).

L'exposition moyenne et des forts consommateurs (95^e percentile) adultes et enfants de la population générale et végétarienne, est présentée dans le tableau 11.

Tableau 11 : estimation des apports alimentaires moyens et des forts consommateurs (P95) pour différents types de population en zéaralénone (EAT, 2004⁽¹²⁾)

Type de population		Apport moyen (µg/kg p.c./j)	Apport au P95 (µg/kg p.c./j)	% de la DJTP ¹ pour P95	% d'individus pouvant dépasser la DJTP
Population générale	Adultes (15 ans et +)	0,033	0,070	35	0
	Enfants (3-14 ans)	0,066	0,132	66	0,4
Population végétarienne (15 ans et +)	Ovolactovégétariens	0,050	0,110	55	0
	Lactovégétariens	0,060	0,120	60	0
	Végétaliens	0,200	0,570	285	8

¹ Le SCF a fixé une DJTP de 0,2 µg/kg p.c./j.

Les aliments contributeurs à l'exposition de la population française à la zéaralénone sont le blé, les produits dérivés du blé, ainsi que le maïs et le riz.

À titre de comparaison, la Tâche Scoop européenne⁽¹³⁾ réalisée en 2003 montre des niveaux d'exposition du même ordre de grandeur que ceux observés dans le cadre de l'étude de l'alimentation totale (tableau 12).

Tableau 12 : exposition alimentaire moyenne de la population française à la zéaralénone (Tâche Scoop, 2003).

Population	Exposition moyenne (µg/kg p.c./j)
Population globale	0,027
Adultes hommes	0,029
Adultes femmes	0,025
Enfants (3 à 15 ans)	0,042

(12) Étude de l'alimentation totale française. Mycotoxines, minéraux et éléments traces. (2004). Rapport INRA/DGAL. Coordinateur Jean-Charles Leblanc.

(13) SCOOP report on Tasks 3.2.10. (2003). Collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU members states.

La France présente une exposition alimentaire à la zéaralène relativement proche de celle calculée en Autriche (0,029 µg/kg/j), en Finlande (0,027), aux Pays-Bas (0,021) ou au Royaume-Uni (0,014). Les populations d'Allemagne (0,005), de Norvège (0,008), d'Italie (0,001) et du Portugal (0,004) semblent quant à elles moins exposées. Cependant, le type d'enquête alimentaire, le nombre d'échantillons analysés, les méthodes analytiques et les laboratoires étant différents selon les pays, il n'est pas possible de tirer de véritables conclusions comparatives des niveaux d'exposition entre les pays européens.

Effets sur la santé animale et transfert dans les produits animaux

Le porc est particulièrement sensible à la zéaralène. Chez la truie impubère, la consommation de zéaralène purifiée ou contenue dans un aliment (1,5 à 2 mg/kg), provoque des symptômes d'hyper-œstrogénisme : rougissement et gonflement de la vulve, prolapsus du vagin, hypertrophie de l'utérus, atrophie des ovaires et épaissement de l'épithélium vaginal, mais l'animal ne manifeste pas le réflexe d'immobilisation. Le mâle présente une atrophie des testicules et un prolapsus du rectum. Les tétines sont plus développées dans les deux sexes. Chez la truie pubère, des niveaux plus élevés de toxine (64 mg/kg d'aliment) sont nécessaires pour induire ces symptômes.

Les conséquences sur la maturité sexuelle des truies et la durée de leur cycle ne sont pas clairement établies et les divergences observées entre les études sont vraisemblablement dues à l'âge des animaux, à la dose de zéaralène ingérée et aux conditions d'alimentation.

À partir d'une teneur de l'aliment de 3 mg de zéaralène /kg, la durée de l'intervalle sevrage-œstrus des truies cyclées est prolongée, pouvant aller jusqu'à l'absence totale de retour en œstrus. Cette durée et la proportion de femelles atteintes sont d'autant plus grandes que le taux de zéaralène est élevé.

Au-delà de 7 mg de zéaralène /kg d'aliment, la mortalité embryonnaire est accrue. Cet effet s'accroît lorsque le taux de toxine augmente, la perte de la totalité de la portée étant constatée avec un aliment qui renferme 64 mg de zéaralène /kg.

La consommation d'une dose plus faible de zéaralène (4 mg/kg) à partir de l'insémination diminue le poids moyen des fœtus et des placentas, mesuré à 80 jours de gestation. Cette réduction de croissance est associée à une augmentation de l'hétérogénéité de la portée et à une anémie des fœtus. Par ailleurs, des cas d'abduction des membres ont également été notés à la naissance des porcelets.

L'observation de porcelets nouveau-nés présentant des symptômes d'œstrogénisme confirme le passage transplacentaire de la zéaralène et/ou de ses métabolites α -zéaralénol et β -zéaralénol. De l' α - et du β -zéaralénol sont également retrouvés dans le lait des truies consommant pendant la lactation un aliment contenant 40 mg/kg de zéaralène.

Chez le verrat impubère, la consommation d'aliment contaminé par 40 mg de zéaralène /kg jusqu'à 18 semaines d'âge diminue sa libido mais n'affecte pas ultérieurement son âge à la puberté ni la taille et le poids des testicules et de l'épididyme, ni la mobilité des spermatozoïdes. Chez le verrat pubère, des teneurs en zéaralène jusqu'à 200 mg/kg d'aliment n'ont pas montré d'effet sur le potentiel de reproduction.

La zéaralène est métabolisée principalement sous forme de glucuroconjugué et après réduction en α -zéaralénol. Cet isomère est 3 à 4 fois plus actif que la molécule initiale. Le passage de la zéaralène dans le sang est rapide, il atteint un pic 10 à 20 minutes après l'absorption de 11 mg/kg p.c. puis décroît rapidement. Le recyclage de la zéaralène et de ses métabolites grâce à un cycle entérohépatique contribue à augmenter leur demi-vie. Ainsi, des glucuroconjugués des 2 molécules sont encore détectés dans le sang et l'urine de truies 4 à 5 jours après la consommation de 192 µg de zéaralène /kg p.c./j pendant 4 jours. Dans le lait, la métabolisation de la zéaralène conduit à la présence d' α -zéaralénol (82 à 84 %), à partir de 42 h après l'ingestion.

Parmi toutes les espèces animales étudiées, les volailles semblent être les plus résistantes à la zéaralène. Lors d'études expérimentales sur des poules, des teneurs supérieures à 100 mg/kg d'aliment sont en général nécessaires pour obtenir des signes cliniques (augmentation du poids des oviductes, des sécrétions muqueuses, du gain de poids). La dinde serait l'oiseau d'élevage le plus sensible. En plus des signes observés chez la poule, on note une diminution de la ponte et une augmentation des pendeloques chez les mâles.

Peu documenté, le métabolisme hépatique paraît voisin de celui décrit chez le porc avec réduction de la zéaralène en α - et β -zéaralénols ; il varie toutefois selon les espèces et les résultats sont parfois contradictoires. Chez le poulet, de fortes doses de zéaralène (rations avec 100 mg de zéaralène /kg, ou plus) conduisent à une excrétion de la toxine en 24 à 48h. Les résidus les plus abondants, par ordre d'importance, sont retrouvés

dans le foie, les reins, le gésier et les muscles. Il s'agit de la zéaralène et de ses métabolites (α - et β -zéaralénols) sous forme libre et conjuguée. La répartition tissulaire et la nature des résidus sont confirmées lors d'exposition à de faibles doses (1,5 mg/kg d'aliment), sans détection dans le muscle, la graisse et les oeufs.

Chez les ruminants, *In vitro*, la population microbienne du rumen transforme la zéaralène en α -zéaralénol (90 %) et un peu de β -zéaralénol. *In vivo*, cette bioconversion est rapide puisqu'elle se produit pendant la première heure qui suit l'ingestion de l'aliment contaminé. Les protozoaires sont principalement impliqués puisque leur activité métabolique à l'égard de la zéaralène est environ neuf fois plus forte que celle des bactéries. De l' α -zéaralénol endogène est également formé par réduction de la double liaison 1'2', sans apport externe de cet anabolisant interdit. Tous ces métabolites ont une activité œstrogénique égale ou supérieure à celle de la zéaralène.

La zéaralène n'a pas d'effet toxique marqué sur les bactéries du rumen, en particulier sur la bactérie *Butyrivibrio fibrisolvens* très impliquée dans la dégradation des mycotoxines dans le rumen.

Les métabolites hydroxylés (α -et β -zéaralénols), plus polaires que la zéaralène, sont davantage absorbés puis excrétés dans le cycle entérohépatique puis l'urine ce qui réduit sa demi-vie et la rend moins disponible pour les tissus cibles. Ce mécanisme tend à protéger l'animal et à réduire le niveau de contamination de ses produits destinés à la consommation humaine.

L'administration orale de zéaralène (385 à 1982 μ g/kg d'aliment), pendant sept jours à des vaches, n'a pas affecté la consommation d'aliment ni la production de lait. Les problèmes d'infertilité observés de manière récurrente chez les vaches laitières conduites en élevage intensif sont généralement attribués à des troubles métaboliques résultant de la bilan énergétique négatif des animaux en fin de gestation et en début de lactation. Ils pourraient également être dus à la présence de zéaralène dans les aliments concentrés qui constituent une part importante de l'alimentation de ces animaux. La contribution respective de chacune des causes n'est pas actuellement connue.

La consommation quotidienne de 50 à 165 mg de zéaralène par des vaches n'a pas permis de détecter la zéaralène ni ses métabolites dans le plasma ou le lait. À la dose de 544 mg/jour pendant 21 jours, la zéaralène et l' α -zéaralénol ont été détectés dans le lait à un taux cumulatif de 0,06 %. Ces données montrent que la zéaralène ne présente pas de risque avéré pour le consommateur de produits laitiers.

Chez les animaux de compagnie et de loisirs dont l'espérance de vie est généralement longue, c'est le risque lié à la consommation durable d'aliments contaminés qui doit faire l'objet de la surveillance la plus attentive.

• Les équidés

Les chevaux, initialement considérés comme relativement résistants à la contamination par la zéaralène, semblent néanmoins répondre défavorablement (prolapsus utérin) à la présence de zéaralène. Une seule étude fait état d'un tel effet pour une contamination de l'ordre de 2,7 mg de zéaralène /kg dans des criblures de maïs. A contrario, une contamination à hauteur d'environ 1 mg/kg d'aliment (apport de 10 mg/j pendant 10 jours après la phase d'ovulation) s'est révélée sans effet.

• Les carnivores domestiques

Si de fréquentes remontées du terrain montrent que les carnivores domestiques (canidés notamment) seraient susceptibles d'extérioriser des signes d'infécondité liés à une mycotoxicose œstrogénique, une seule série d'essais semble confirmer la sensibilité de l'espèce canine. Des chiennes âgées de 6 mois ont reçu de la zéaralène pure additionnée à leur aliment, à la dose de 200 μ g/kg p.c. durant 7 jours équivalant à une concentration dans l'aliment de 10 mg/kg environ. Au terme de cet essai, les animaux furent ovario-hystérectomisés. Les tissus prélevés ont fait l'objet d'un examen macroscopique et microscopique. L'utérus était œdématisé, hyperémique et hyperplasique avec un endomètre pulpeux et congestif. Le cervix et le vagin présentaient de nombreuses cellules métaplasiques. Quant aux ovaires, il était possible de noter une hyperémie, mais également une atrésie folliculaire.

In vitro, des cultures de cellules de la granulosa et de la thèque interne révèlent, en présence de zéaralène (25 ng/ml), une dégénérescence vacuolaire, signant une atteinte fonctionnelle des tissus folliculaires.

Au vu de ces observations, il n'est pas possible d'écarter formellement l'éventuelle responsabilité d'une contamination même faible des aliments pour carnivores utilisés par les femelles potentiellement reproductrices dans la survenue de troubles de la fécondité en élevage (œstrus prolongé, kystes ovariens, pyomètre, etc.).

Aucun cas d'intoxication par la zéaralène n'a été rapporté **chez les poissons d'élevage**. Cependant, des études expérimentales suggèrent des effets sur la reproduction.

In vitro, l'effet œstrogénique de la zéaralène et de ses métabolites (α - et β -zéaralénol), a été démontré sur des cultures d'hépatocytes de saumon atlantique à des doses de 10 à 1000 nM (stimulation de la synthèse de la vitellogénine et de protéines zr spécifiques des œufs).

Des observations identiques ont été réalisées sur la truite arc en ciel chez qui l'affinité mesurée pour le récepteur aux œstrogènes est respectivement de 1/300 à 1/50 pour zéaralène et l' α -zéaralénol par rapport au 17β -œstradiol. Chez les poissons, la sensibilité *in vivo* semble plus élevée qu'*in vitro*.

Il est probable que l'induction de la synthèse hépatique de la vitellogénine et des protéines zr par la zéaralène et ses métabolites chez les poissons soit causée par leur liaison au récepteur à des œstrogènes. Le potentiel œstrogénique de ces substances chez les salmonidés suit l'ordre suivant : α -zéaralénol > zéaralène > β -zéaralénol, comme dans la majorité des espèces animales.

Chez la carpe, l'ingestion de zéaralène provoque une réduction du nombre et de la qualité des spermatozoïdes mais les mécanismes d'actions ne sont pas identifiés.

Une méthode de dosage par LC/MS de la zéaralène, de l' α -zéaralénol et du β -zéaralénol dans les tissus de truites arc-en-ciel a été mise au point mais aucune valeur de transfert de zéaralène ou ses métabolites dans les tissus n'a encore été publiée.

Réglementation

Dans le cadre du 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, des teneurs maximales ont été fixées pour la zéaralène (tableau 13). Par ailleurs, aucune teneur maximale en zéaralène n'est fixée dans les matières premières et les aliments pour animaux. Cependant, la Commission recommande⁽¹⁴⁾ d'appliquer des teneurs maximales en zéaralène dans les matières premières et aliments destinés à l'alimentation animale.

Tableau 13 : Teneurs maximales en zéaralène dans les denrées alimentaires exprimées en $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Produit	Teneur maximale en $\mu\text{g}/\text{kg}$
Céréales brutes autres que le maïs	100
Maïs brut	200 ⁽ⁱ⁾
Céréales destinées à la consommation humaine directe, farine de céréales, son et germe (à l'exception des préparations à base de maïs)	75
Maïs destiné à la consommation humaine directe, farine de maïs, maïs moulu, gruau de maïs et huile de maïs raffinée	200 ⁽ⁱ⁾
pain, pâtisseries, biscuits (à l'exception des préparations à base de maïs)	50
collations au maïs et céréales pour petit déjeuner à base de maïs	50 ⁽ⁱ⁾
autres collations à base de céréales et céréales pour petit déjeuner	50
préparations à base de maïs destinées aux nourrissons et enfants en bas âge	20 ⁽ⁱ⁾
autres préparations à base de céréales et aliments pour bébés destinés aux nourrissons et enfants en bas âge	20

(i) la teneur est applicable au 1^{er} Juillet 2007.

(14) Recommandation 2006/576/CE de la Commission du 17 août 2006 concernant la présence de déoxynivalénol, de zéaralène, d'ochratoxine A, des toxines T-2 et HT-2 et de fumonisines dans les produits destinés à l'alimentation animale.

Données de contamination

Les données disponibles issues des plans de surveillance et de contrôle des services de l'État montrent que parmi les échantillons des récoltes 2000-2002 prélevés au champ, le maïs est contaminé par la zéaralène à la teneur de 190 µg/kg en moyenne. 22 % des échantillons dépasseraient la valeur réglementaire envisagée (cf tableau 13). Les valeurs de contamination des échantillons des récoltes 2003-2004 prélevés au silo sont beaucoup plus faibles (6 µg/kg en moyenne).

Les semoules et farines de maïs sont les aliments les plus contaminés, avec une teneur moyenne en zéaralène de 13,3 µg/kg. Aucun échantillon ne dépasse la limite réglementaire envisagée de 200 µg/kg. Les autres produits à base de céréales, notamment les semoules et farines de blé, présentent des teneurs beaucoup plus faibles, comprises entre 2 et 4 µg/kg (plus de 80 % des valeurs n'ont pas été quantifiées (LOQ = 5 à 10 µg/kg)). Les limites réglementaires ne sont dépassées que dans un échantillon de produits à base de céréales destinés aux enfants en bas-âge.

Conclusion

L'effet toxique le plus préoccupant de la zéaralène est son caractère de perturbateur endocrinien à activité œstrogénique. L'effet sur l'homme n'est pas avéré. En revanche, le porc est sensible à la zéaralène, plus particulièrement les jeunes femelles. La zéaralène subit une bioactivation en α -zéaralène, dont l'activité œstrogénique est supérieure à celle du composé parental.

La DJTP fixée par le SCF en 2000 a été retenue pour la caractérisation du risque pour le consommateur. L'exposition alimentaire humaine est inférieure à la dose journalière tolérable sauf pour la population des végétaliens/macrobiotes qui dépasse cette valeur toxicologique de référence de 185 %. Les principaux aliments vecteurs sont les céréales (maïs) contaminées au champ par des *Fusarium* producteurs. Les animaux d'élevage peuvent être exposés à la zéaralène contaminant les céréales et co-produits céréaliers à des teneurs élevées capables d'induire un risque d'apparition d'effets œstrogéniques, notamment chez le porc.

Il serait souhaitable que des études toxicologiques soient réalisées selon les lignes directrices reconnues internationalement afin de réviser les doses journalières tolérables provisoires fixées en 1999 et 2000 sur le fondement d'études insuffisantes. Il serait aussi intéressant d'étudier les interactions de la zéaralène avec les autres perturbateurs endocriniens. Des études devraient également être conduites pour améliorer les connaissances toxicologiques des associations de toxines fusariennes, notamment de la zéaralène avec des trichothécènes et des fumonisines. La présence de la zéaralène et de ses métabolites, notamment l' α -zéaralène, dans les produits animaux, devra faire l'objet d'études complémentaires afin d'évaluer la réalité du transfert dans les denrées d'origine animale.

Les plans de surveillance devront être confortés par la prise en compte des produits céréaliers à base de blé destinés à l'alimentation humaine et animale.

Les fumonisines

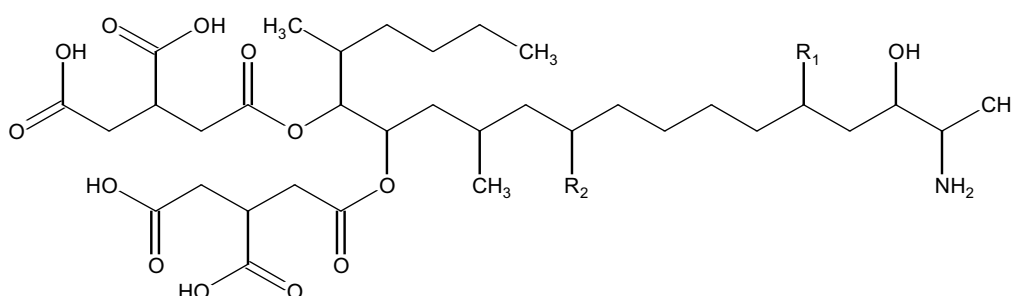
Bien que la découverte de la structure de la fumonisine B1 (FB1) date de 1988, les effets de cette famille de mycotoxines sont connus depuis longtemps dans plusieurs espèces animales, en particulier chez les équidés où elle entraîne une nécrose cérébrale et une hépatotoxicité. Cette mycotoxine est principalement produite par *Fusarium verticillioides* (anciennement *F. moniliforme*) et *F. proliferatum*.

La FB1 agit sur la voie de biosynthèse des sphingolipides en inhibant de façon compétitive l'activité de la céramide synthase. Cette perturbation de la synthèse des sphingolipides entraîne une accumulation de bases sphingoïdes [la sphinganine (Sa) et dans une moindre mesure la sphingosine (So)] et une déplétion en céramide et en sphingolipides complexes. Elle se traduit par l'augmentation du rapport Sa/So, observée dans les tissus et le sérum d'animaux ayant consommé des fumonisines. Chez l'animal, ce rapport constitue un marqueur précoce, dépendant de la dose et spécifique d'une exposition aux fumonisines. On ignore encore le lien entre les effets de la FB1 sur le métabolisme des sphingolipides et l'origine de la diversité des manifestations cliniques observées chez l'animal. Il n'existe pas de biomarqueur d'exposition validé chez l'homme.

Propriétés physico-chimiques

Les fumonisines constituent un groupe de mycotoxines chimiquement voisines dont la structure est donnée dans la figure 6.

Figure 6 : structures chimiques des fumonisines.



	R1	R2	Formule brute	Nombre CAS	Masse Moléc.
Fumonisine B1 (FB1)	OH	OH	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₅	116355-83-0	721,838
Fumonisine B2 (FB2)	OH	H	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₄	116355-84-1	705,839
Fumonisine B3 (FB3)	H	OH	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₄	136379-59-4	705,839
Fumonisine B4 (FB4)	H	H	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₃	136379-60-7	689,840

La FB1 a un poids moléculaire de 722 g/mol et la FB2 de 706 g/mol. Ce sont des composés polaires, solubles dans l'eau et insolubles dans les solvants apolaires.

Méthodes d'analyse

Le règlement (CE) n° 401/2006 de la Commission du 23 février 2006 fixe les modes de prélèvement d'échantillons et des méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en mycotoxines des denrées alimentaires.

Le dépistage des fumonisines FB1 et FB2 dans le maïs et les aliments peut se réaliser par des immuno-essais de type ELISA.

La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) avec détection fluorimétrique après dérivation de l'extrait permet de quantifier les fumonisines dans les différentes matrices. Les limites de quantification sont comprises entre 50 et 100 µg/kg selon les matrices. Actuellement une telle méthode est validée pour la recherche des FB1 et FB2 dans le maïs et le maïs peu transformé (EN 13585) et un projet de norme est en préparation au CEN (prEN 14352) pour le dosage des FB1 et FB2 dans les produits dérivés du maïs (farine et céréales du petit-déjeuner).

Cependant, l'identification et la quantification précises nécessitent d'utiliser la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CL-SM/SM).

Facteurs influençant la teneur en fumonisines dans les denrées

Les fumonisines présentes sur les céréales semblent être produites quasi exclusivement au champ, sur maïs et sorgho par des espèces de *Fusarium* telles que *F. verticillioides* et *F. proliferatum*. Les facteurs de variation sont moins bien connus que ceux concernant les autres fusariotoxines. La présence importante de fumonisines est liée à des températures estivales élevées. Les maïs cultivés dans le nord de la France sont potentiellement moins contaminés par les fumonisines que ceux cultivés au sud. Les insectes ravageurs de culture, comme la pyrale, induisent des lésions dans les tiges et épis de maïs, augmentant le risque de contamination.

En semoulerie de maïs, on observe une forte contamination des sons alors que les autres fractions ont des teneurs inférieures. La répartition de la FB2 dans le grain est identique à celle de la FB1. Les fumonisines étant thermostables, elles persistent dans les produits alimentaires transformés à base de maïs.

Effets chez l'homme

Peu d'études épidémiologiques sont disponibles et la plupart ne sont pas concluantes dans la mesure où les données quantitatives ne permettent pas de conduire une évaluation du risque. Les études réalisées en Afrique du Sud et en Chine semblent établir une corrélation entre la consommation de produits contaminés par la FB1 et une augmentation de l'incidence du cancer de l'œsophage, corrélation qui n'a pas été mise en évidence dans une étude réalisée en Italie.

Devenir et propriétés toxicologiques

Chez l'animal, après administration par voie orale, la FB1 est faiblement absorbée et se retrouve majoritairement dans les fèces. La biodisponibilité de FB1 est évaluée de 1 à 6 % selon l'espèce. La majeure partie de la toxine absorbée se retrouve dans le foie et les reins. La demi-vie d'élimination plasmatique est de l'ordre de 1 heure dans la plupart des espèces animales. Cette élimination rapide suggère que la toxine n'est pas bioaccumulable alors que sa toxicité par administration répétée suggère le contraire. Les fumonisines sont peu ou pas métabolisées *in vitro* ou *in vivo*. Les fumonisines sont excrétées principalement dans les fèces sous forme native ou partiellement hydrolysée après désestérification.

Il y a peu de preuves d'un transfert de toxine au niveau placentaire ou pendant la lactation. De même, la faible présence de FB1 dans les tissus, le lait ou les œufs conduit à conclure que les résidus de fumonisine dans des produits alimentaires d'origine animale sont faibles et ne présentent pas de risque pour le consommateur.

Dans les études de reproduction, embryotoxicité et tératogénicité, la FB1 entraîne des anomalies de fermeture du tube neural et des altérations crâniofaciales chez des embryons de souris qui peuvent être évitées par une supplémentation de l'aliment en acide folique. Chez l'homme, une étude récente suggère une association significative entre ces anomalies du tube neural et la consommation d'aliments contaminés par les fumonisines pendant le premier trimestre de la grossesse.

La fumonisine B1 est immunotoxique. Elle altère à la fois la synthèse de cytokines, la réponse immunitaire à médiation humorale et la réponse immunitaire à médiation cellulaire et augmente la sensibilité des animaux aux infections.

Les fumonisines peuvent induire des effets indésirables sur le système cardiovasculaire (hypertension et athérosclérose). Les altérations cardiaques pourraient être à l'origine de l'encéphalomalacie équine et de l'œdème pulmonaire porcin. Chez les porcs ayant ingéré des fumonisines une augmentation significative de la pression artérielle pulmonaire, accompagnée d'une diminution de la fréquence et du débit cardiaque, a été observée.

La FB1, la FB2 et la FB3 ne sont pas mutagènes dans le test de Ames en présence ou en l'absence de la fraction S9, mais elles peuvent avoir une action génotoxique.

Une étude de cancérogénicité sur 2 ans chez le rat et la souris a montré que la FB1 entraîne le développement d'adénomes des tubules rénaux chez le rat femelle mais pas chez le mâle et provoque le développement d'adénomes et de carcinomes hépatiques chez la souris femelle et pas chez le mâle.

Valeurs Toxicologiques de Référence

En 1993, les toxines produites par *F. moniliforme* ont été classées dans le groupe 2B (probablement cancérogène) par le CIRC. En 2003, la FB1 seule a été classée dans le groupe 2B.

Le SCF a établi en 2000, une dose journalière tolérable (DJT) pour la FB1 de 2 µg/kg p.c./j à partir d'une étude de toxicité chronique chez le rat. L'effet toxique pertinent est une néphrotoxicité et la dose sans effet indésirable observé (NOAEL) est de 0,2 mg/kg p.c./j à laquelle un facteur de sécurité de 100 a été appliqué. Cette valeur a été validée en 2003 comme une DJT de groupe applicable à FB1, FB2 et FB3 seules ou en combinaison.

Le JECFA a établi en 2001 une dose journalière maximale tolérable provisoire (DJMTP) de 2 µg/kg p.c./j pour le groupe des fumonisines FB1, FB2 et FB3, seules ou en combinaison⁽¹⁵⁾, en se basant sur les mêmes critères que le SCF.

Exposition de l'homme aux fumonisines par voie alimentaire

L'étude de la ration alimentaire totale (EAT) entreprise en 2000, afin de connaître le niveau de consommation et d'exposition de la population française aux fumonisines à partir d'aliments « prêts à consommer » montre que, sur 34 échantillons d'aliments analysés, 14 présentent des teneurs en FB1 supérieures à la limite de détection notamment des céréales du petit déjeuner (5 échantillons sur 12) avec des teneurs en FB1 ou FB2 comprises entre 60 et 120 µg/kg et des foies de volaille (3 échantillons sur 6) avec des teneurs en FB1 comprises entre 90 et 120 µg/kg. Ces teneurs élevées dans les foies de volaille sont cependant surprenantes étant donné les paramètres toxicocinétiques de la FB1. Des études complémentaires de devenir et de persistance à l'état résiduel dans les produits carnés semblent donc nécessaires, principalement chez la volaille.

L'exposition moyenne et des forts consommateurs (95^e percentile) adultes et enfants de la population générale et végétarienne a été estimée (tableau 14).

Tableau 14 : estimation des apports alimentaires moyens et des forts consommateurs (P95) pour différents types de population en fumonisines (EAT, 2004⁽¹⁶⁾)

Type de population		Apport moyen (µg/kg p.c./j)	Apport au P95 (µg/kg p.c./j)	% de la DJT ¹ pour P95	% d'individus pouvant dépasser la DJT
Population générale	Adultes (15 ans et +)	0,014	0,064	3	0
	Enfants (3-14 ans)	0,046	0,175	9	0
Population végétarienne (15 ans et +)	Ovolactovégétariens	0,040	0,130	7	0
	Lactovégétariens	0,050	0,120	6	0
	Végétaliens	0,100	0,290	15	8

¹ Le SCF a fixé une DJT de 2 µg/kg p.c./j.

(15) En 1999, le CSHPF avait calculé, à titre indicatif, pour l'ensemble des fumonisines une limite toxicologique pour l'homme de 0,8 µg/kg p.c./j (NOAEL de 4 mg/kg p.c./j) en s'appuyant sur des études fondées sur le développement du cancer du foie chez le rat.

(16) Étude de l'alimentation totale française. Mycotoxines, minéraux et éléments traces. (2004). Rapport INRA/DGAL. Coordinateur Jean-Charles Leblanc.

À titre de comparaison, les données de contamination utilisées dans la Tâche Scoop européenne⁽¹⁷⁾ réalisée en 2003 (tableau 15) conduisent à des niveaux d'exposition plus élevés que ceux observés dans l'étude de l'alimentation totale. Il convient de noter que le nombre d'échantillons utilisés dans la tâche Scoop est 10 fois plus élevé que dans l'étude de l'alimentation totale et qu'ils concernent uniquement les produits céréaliers.

Tableau 15 : exposition alimentaire de la population française aux fumonisines (Tâche Scoop, 2003).

Population	Exposition moyenne (µg/kg p.c./j)	
	Fumonisine B1	Fumonisines B1+B2
Population globale	0,218	0,264
Adultes hommes	0,227	0,282
Adultes femmes	0,211	0,264
Enfants	0,355	0,445

Les aliments contributeurs à l'exposition de la population française aux fumonisines au travers de la Tâche Scoop sont les produits issus de blé, le maïs, le riz et les produits céréaliers. Comparativement aux autres pays européens, la France présente une exposition alimentaire aux fumonisines plus importante en raison notamment de la contamination du blé et des produits à base de blé. Ce dernier résultat est à considérer avec précaution étant donné que le blé n'est pas habituellement considéré comme une céréale susceptible d'être contaminée par les fumonisines.

Effets sur la santé animale et transfert dans les produits animaux

Porcins. Dans cette espèce, les fumonisines induisent une pathologie caractéristique : l'œdème pulmonaire. Les signes cliniques incluent dyspnée, faiblesse et cyanose. À l'autopsie, les animaux présentent un œdème pulmonaire et un hydrothorax. Histologiquement, cet œdème est à la fois interstitiel et interlobulaire. Il apparaît pour des contaminations de 20 à 360 mg/kg d'aliment.

Chez le porc, les fumonisines induisent également une hépatotoxicité (à partir de teneurs en fumonisines de 17 mg/kg d'aliment), des altérations de la fonction cardiovasculaire, des désordres immunitaires avec une augmentation de la sensibilité aux infections.

Les **volailles** sont classiquement considérées comme résistantes aux fumonisines. Des doses supérieures à 100 mg/kg d'aliment sont en général nécessaires pour voir apparaître des effets. Toutefois, des altérations des performances zootechniques et de la mortalité ont été observées à partir de 20 mg/kg d'aliment chez les palmipèdes gras au cours du gavage.

Comme chez les autres espèces, il semble que les fumonisines présentent une très faible absorption orale (< 5 %) et une élimination rapide (temps de demi-élimination voisin d'une heure), ce qui limite leur risque de persistance à l'état résiduel.

Chez les **ruminants**, la FB1 est peu ou pas biotransformée par les microorganismes du rumen. Des différences de sensibilité difficiles à expliquer existent entre espèces de ruminants ou types de production. Les ovins seraient particulièrement sensibles à la FB1 et les bovins laitiers semblent plus sensibles que les bovins à viande. Des troubles de la fonction hépatique (dès 150 mg/kg d'aliment), ainsi qu'une diminution des quantités ingérées et des baisses de la production laitière (à la dose de 100 mg/kg d'aliment) ont été décrits chez les bovins. Les rares mesures effectuées montrent que les taux de transfert des fumonisines dans le lait sont nuls ou faibles (0,05 %). Il n'y a donc pas de risque avéré des fumonisines pour le consommateur de produits laitiers issus des ruminants.

Pour les **poissons**, aucun cas de toxicité à la FB1 observé sur le terrain n'a été rapporté dans la littérature scientifique. Toutefois, quelques études expérimentales ont été menées, et les fumonisines sont reconnues toxiques chez les poissons. Les effets toxiques se manifestent chez le poisson-chat par une baisse de la croissance, une modification des paramètres sanguins (aux doses respectives de 20 et 80 mg/kg d'aliment), des lésions

(17) SCOOP report on Tasks 3.2.10. (2003). Collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU members states.

hépatiques, ainsi que de la mortalité (très importante à partir de 320 mg/kg d'aliment). Chez de jeunes carpes, l'ingestion de FB1 (0,5 mg/kg aliment) affecte les fonctions hépatique et rénale. Le système immunitaire est aussi perturbé. Les données expérimentales disponibles suggèrent une dose sans effet de 5 mg de FB1/kg d'aliment chez les poissons, mais cela reste à confirmer.

Les **équins** représentent un groupe cible particulièrement sensible à la présence de fumonisines. L'ingestion de fumonisines provoque un syndrome neurologique dénommé leucoencéphalomalacie (LEM) caractérisé par la présence de lésions nécrotiques liquéfiées dans le cerveau. La maladie semble être caractéristique des équidés. En plus des lésions au cerveau, des atteintes histopathologiques sont visibles au niveau du foie. Cependant, seule la responsabilité de la FB1 est actuellement clairement démontrée. La consommation d'aliment contenant plus de 10 mg FB1/kg (équivalent à 0,2 mg/kg p.v./j) est associée à un risque accru de développer la maladie, le risque étant quasi nul si la concentration est inférieure à 6 mg/kg (équivalent à 0,12 mg/kg p.v./j). Par ailleurs, la dose intraveineuse minimale de FB1 pure qui provoque des anomalies neurologiques est entre 0,01 et 0,05 mg/kg p.v./j. Si on fait l'hypothèse que la dose intraveineuse représente 5 % de la dose orale, la dose orale sans effet serait donc de 0,2 mg/kg p.v. (équivalent à environ 8 mg/kg aliment).

Aussi semble-t-il prudent de ne pas faire consommer aux chevaux d'aliments dans lesquels le taux de FB1 dépasse 8 mg/kg. La part des aliments contenant un mélange des différentes fumonisines sans dépassement de la valeur seuil précitée ne devrait pas représenter plus de 20 % de la ration quotidienne.

Chez les **carnivores domestiques**, aucun trouble n'a jamais été rapporté. Ainsi, les teneurs habituelles de contamination ne semblent pas présenter de risque pour la santé des carnivores domestiques.

Réglementation

Dans le cadre du 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, des teneurs maximales ont été fixées pour les fumonisines (tableau 16). Par ailleurs, aucune teneur maximale en zéaralénone n'est fixée dans les matières premières et les aliments pour animaux.

Par ailleurs, la Commission recommande⁽¹⁸⁾ d'appliquer des teneurs maximales en fumonisines B1 + B2 dans les matières premières et aliments destinés à l'alimentation animale.

Tableau 16 : teneurs maximales en fumonisines (somme B1+B2) dans les denrées alimentaires exprimées en µg/kg.

Produit	Teneur maximale en µg/kg
Maïs brut	2000 ⁽ⁱ⁾
Farine de maïs, maïs moulu, gruau de maïs et huile de maïs raffinée	1000 ⁽ⁱ⁾
Aliments à base de maïs destinés à la consommation humaine directe (à l'exception de farine de maïs, maïs moulu, gruau de maïs et huile de maïs raffinée)	400
Préparations à base de maïs destinées et aliments pour bébés destinés aux nourrissons et enfants en bas âge	200 ⁽ⁱ⁾

(i) la teneur est applicable au 1^{er} octobre 2007.

Données de contamination

Dans le cadre des plans de surveillance et de contrôle des services de l'État, les fumonisines B1 et B2 ont été dosées dans des échantillons de maïs récoltés au champ (2000-2001) et en silo (2003-2004) : la contamination moyenne du maïs par les fumonisines B1 et B2 est de 240 µg/kg sur les échantillons prélevés au champ et de 1065 µg/kg au silo. Il convient de noter cependant que ces mesures ont été réalisées sur des campagnes différentes. Une limite réglementaire de 2000 µg/kg serait dépassée dans 9 % des 45 échantillons prélevés au silo et 3 % des 121 échantillons prélevés au champ.

(18) Recommandation 2006/576/CE de la Commission du 17 août 2006 concernant la présence de déoxynivaléol, de zéaralénone, d'ochratoxine A, des toxines T-2 et HT-2 et de fumonisines dans les produits destinés à l'alimentation animale.

En ce qui concerne les produits prêts à consommer à base de céréales (1998 à 2004), la contamination moyenne des farines et semoules de maïs est de 233 µg/kg d'aliment. Les céréales pour petit déjeuner et autres produits à base de céréales ont une teneur comprise entre 18 et 37 µg/kg, avec plus de 90 % des échantillons non quantifiables. Sur 21 échantillons de produits à base de céréales destinés aux enfants en bas-âge, 3 échantillons dépassent la future limite réglementaire envisagée de 200 µg/kg.

Conclusion

La contamination en fumonisines du maïs, notamment dans les cultures du sud de l'Europe, apparaît variable selon les années en fonction des conditions météorologiques.

Parmi les différentes fumonisines, les effets de la fumonisine B1 sont les mieux caractérisés. Elle entraîne notamment une altération du métabolisme des sphingolipides dont toutes les conséquences toxicologiques ne sont pas connues. La connaissance de la toxicité des autres fumonisines est très limitée et le différentiel toxique entre fumonisines n'est pas connu. Des études mériteraient d'être engagées pour mieux caractériser le danger des fumonisines.

La population française est peu exposée aux fumonisines en raison de la faible consommation de maïs et du faible transfert de ces toxines dans les produits animaux. Cependant, les teneurs mesurées dans le cadre des plans de surveillance et de contrôle dans les produits à base de céréales destinés aux enfants en bas-âge montrent qu'il conviendrait de renforcer les contrôles sur ces produits.

En revanche, la population animale est plus exposée, le maïs pouvant constituer un élément majeur de son alimentation. En termes de santé animale, la leucoencéphalomalacie équine est la principale pathologie observée. Les issues de maïs utilisées dans l'alimentation des animaux, notamment celle des équidés, présentent donc un risque particulier. D'une façon générale, les teneurs maximales recommandées (Recommandation de la FDA⁽¹⁹⁾ et de la Commission⁽²³⁾) pour les maïs destinés aux animaux apparaissent trop laxistes au regard de la protection de la santé animale.

(19) FDA. Background Paper in Support of Fumonisin Levels in Animal Feed, FDA 2001.

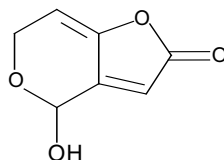
La patuline a été découverte dans les filtrats de culture de *Aspergillus clavatus* en 1942. Identifiée pour ses propriétés antibiotiques envers les bactéries Gram + et Gram -, elle suscite de nos jours un intérêt en raison de son caractère contaminant naturel des produits dérivés de la filière de la pomme. Cette toxine a été extraite de cultures de *Penicillium patulum* (aussi nommé *P. griseofulvum*, *P. urticae*), *P. expansum*, *P. glandicola* (aussi nommé *P. granulatum*), *P. vulpinum* (aussi nommé *P. claviforme*), *P. paneum*, *P. carneum*, *Aspergillus clavatus*, *A. giganteus*, *A. terreus*, *Byssochlamys nivea* et de *B. fulva* ainsi que de *Paecilomyces* (forme sexuée de ces champignons).

La patuline constitue un exemple particulier de mycotoxine utilisée un temps en thérapeutiques vétérinaire et humaine en raison de ses propriétés antibiotiques. Elle fut ainsi prescrite avec succès dans la brucellose bovine et contre les agents des rhumes et bronchites mais sa neurotoxicité a conduit à son abandon, en dépit de quelques succès dans le traitement local de plaies infectées et pour la cicatrisation des blessures de la cornée chez l'homme.

Propriétés physico-chimiques

La patuline est connue sous une grande diversité de noms (expansine, clavacine, claviformine, clavatine, mycoin C₃, pénicidine). Il s'agit d'une lactone hétérocyclique insaturée de poids moléculaire 154 g/mol et de formule brute C₇H₆O₄ (figure 7). Caractérisée par un point de fusion de 111°C et un maximum d'absorption à 275 nm, elle est soluble dans l'eau et la plupart des solvants organiques, à l'exception du benzène et de l'éther de pétrole. Elle est stable en milieu acide mais perd son activité en milieu alcalin.

Figure 7 : structure moléculaire de la patuline.



Méthodes d'analyse

Le règlement (CE) n° 401/2006 de la Commission du 23 février 2006 fixe les modes de prélèvement d'échantillons et des méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en mycotoxines des denrées alimentaires.

Les méthodes de dosage les plus récentes font appel à la chromatographie liquide ou gazeuse couplée à un détecteur à capture d'électrons ou à la spectrométrie de masse. Les limites de détection de la patuline sont comprises entre 1 et 10 µg/L dans le jus de pomme. Il existe une méthode validée pour les jus et compotes de pomme par l'AOAC (AOAC 2000.02) et reprise dans la norme CEN prEN 14177.

Facteurs influençant la teneur en patuline dans les denrées

En condition de laboratoire, la production de patuline par *Aspergillus* et *Penicillium* est optimale pour des températures comprises entre 20°C et 25°C sur des milieux contenant des sucres et notamment du glucose. La production maximale apparaît une à deux semaines après la mise en culture de la moisissure.

Au champ, parmi les espèces fongiques toxigènes, *P. expansum*, contaminant commun des *Pomaceae* (pommes, poires), est certainement l'espèce la plus importante du point de vue économique et sanitaire. En effet, ce champignon saprophyte de la pomme est le responsable majeur de la contamination par la patuline des jus de fruits, compotes et autres produits de la transformation des pommes. La production de patuline est favorisée par la blessure des fruits (choc, attaques d'insectes, ...). Outre les *Pomaceae*, *P. expansum* est un

saprophyte d'autres cultures. La patuline a été détectée dans des bananes, pêches, abricots, raisins, jus de raisin et vin, mais en général le taux de patuline demeure bien plus faible que dans les produits issus de la filière « pomme ». D'autres substrats naturels permettent la toxigenèse, il s'agit des céréales (blé, riz), des pulpes de betterave ou de la paille.

Deux espèces de *Penicillium* proches phylogénétiquement de *P. roqueforti*, à savoir *P. paneum* et *P. carneum* produisent la patuline. En revanche, aucune souche de *P. roqueforti* n'a jamais été identifiée comme productrice de patuline.

L'ensilage de maïs⁽²⁰⁾ et l'ensilage d'herbe représentent les deux principales sources de patuline en élevage. Les espèces de *Paecilomyces* sont responsables de la production de patuline dans les ensilages d'herbe et *Byssoschlamys nivea* est l'organisme producteur de patuline dans les ensilages de maïs. Cette moisissure peut apparaître au niveau des fronts de coupe d'ensilages.

Effets chez l'homme

Des effets neurotoxiques ont été décrits lors de son utilisation en thérapeutique humaine dans les années 1950. Ils sont à l'origine de l'abandon de cette molécule en thérapeutique antibiotique.

Devenir et propriétés toxicologiques

La toxicocinétique de la patuline a été évaluée après administration de [¹⁴C]-patuline par voie orale chez le rat. La majorité de la radioactivité est éliminée au cours des 24 premières heures. Seules des traces sont mesurées dans le sang et les principaux organes ou sont excrétées sous forme ultime de [¹⁴C] CO₂. Des études *in vitro* démontrent que la plus grande partie de la toxine réagit avec le glutathion intracellulaire et devient non détectable par les méthodes analytiques classiques.

Chez les rongeurs, les études de toxicité aiguë ont permis de déterminer que les DL₅₀ par voie orale se situent entre 29 et 55 mg/kg p.c. chez le rat, la souris ou le hamster. La volaille paraît moins sensible avec une DL₅₀ de 170 mg/kg p.c. chez le coq. Administrée par voie intraveineuse, intrapéritonéale ou sous-cutanée, la patuline s'avère 3 à 6 fois plus toxique pour les mêmes espèces. Chez toutes les espèces, les signes toxiques correspondent à une neurotoxicité (agitation, convulsions) associée à une congestion pulmonaire avec ulcération et inflammation intestinales.

Chez le rat, l'administration orale à court terme de patuline conduit à une perte pondérale avec des altérations gastro-intestinales et une perturbation de la fonction rénale. L'administration répétée par voie orale de patuline conduit à des signes de neurotoxicité (tremblements, convulsions) et à une inhibition caractérisée de l'activité d'enzymes dans l'intestin et le cerveau avec des conséquences sur le métabolisme des lipides. Des tableaux cliniques comparables ont été décrits chez la souris, le hamster ou le poulet. Chez le singe, aucun signe de toxicité n'a été observé après des traitements quotidiens par 0,005 à 0,5 mg/kg p.c./j pendant 4 semaines. Seule l'administration orale de 5 mg/kg p.c./j entraîne un refus alimentaire au cours des trois derniers jours d'exposition.

Dans une étude publiée en 2004, des perturbations endocriniennes ont été mises en évidence chez des rats recevant la patuline par voie orale à raison de 0,1 mg/kg p.c./j pendant 90 jours. Ce traitement provoque une augmentation du niveau sérique en testostérone et en hormone lutéinisante (LH) avec une diminution du taux de thyroxine (T₄) alors qu'il n'apparaît aucun changement pour la triiodothyronine (T₃), la thyrostimuline (TSH) et l'hormone de croissance (GH). L'examen histologique des testicules montre la présence d'œdème, de fibrose, d'une hyperplasie des cellules de Leydig et une désorganisation de l'épithélium des tubules séminifères. Au niveau de la thyroïde, on enregistre une infiltration des cellules lymphoïdes et un élargissement du tissu interstitiel interfolliculaire.

De nombreuses études *in vitro* mettent en évidence les effets immunotoxiques de la patuline. Elle inhibe de multiples fonctions des macrophages dont la synthèse des protéines, la fonction membranaire, la production de radicaux oxygénés, la fusion phagosome-lysosome et l'activité des lysosomes. Des études *in vivo* chez la souris révèlent des effets variés sur le système immunitaire, notamment une augmentation des lymphocytes T d'origine splénique associée à une diminution des immunoglobulines sériques, à une atténuation des réponses d'hypersensibilité ou à une augmentation des neutrophiles avec résistance accrue à l'infection par *Candida albicans*.

(20) Une enquête, réalisée en France en 1977, a montré que 59 % de 34 ensilages de maïs testés contenaient de la patuline.

In vitro, la patuline n'induit pas de mutation génique sur bactérie (test d'Ames) mais présente un effet clastogène sur cellules de mammifères. Les rares études de toxicité à long terme de la patuline ont mis en évidence l'absence de tumeurs chez des rats exposés à des doses orales trihebdomadaires de 0,1 à 2,5 mg/kg p.c./j pendant 74 à 104 semaines. Cette toxine a été classée par le CIRC en 1986 dans le groupe 3 des produits pour lesquels il est impossible de se prononcer quant à la cancérogénicité pour l'homme. En revanche, il convient de noter que des propriétés antitumorales ont été mises en évidence *in vitro* sur des lignées de cellules murines, particulièrement lorsque la patuline est liée à la cystéine.

Valeurs toxicologiques de référence

En 1990, le JECFA avait déterminé une dose journalière tolérable provisoire (DJTP) de 7 µg/kg p.c./j, fondée sur une dose sans effet de 0,1 mg/kg p.c./j obtenue dans une étude chez le rat qui visait à évaluer les effets sur la reproduction, la toxicité à long terme et la cancérogénicité. Dans cette étude, la patuline avait été administrée 3 fois par semaine pendant 2 ans.

Aucune nouvelle étude pertinente à long terme n'étant disponible, en 1995, le JECFA a reconsidéré cette DJTP et a fixé une dose journalière maximale tolérable provisoire (DJMTP) de 0,4 µg/kg p.c./j pour la patuline. Cette DJMTP a été fixée en appliquant un facteur de sécurité de 100 à la dose sans effet de 43 µg/kg p.c./j recalculée à partir de l'étude chez le rat. En 2000, le SCF a confirmé cette valeur, aucune nouvelle étude à long terme n'ayant été réalisée.

Exposition de l'homme à la patuline par voie alimentaire

Une étude de la ration alimentaire totale (EAT) a été entreprise en 2000, afin de connaître le niveau de consommation et d'exposition de la population générale française et de la population végétarienne à la patuline à partir d'aliments « prêts à consommer ». La patuline a été analysée dans 20 échantillons de pâtisseries aux pommes, de pommes fraîches, de compotes, de jus de pomme et de cidres. Les résultats montrent que plus de 80 % des produits analysés présentent des niveaux de contamination en patuline inférieurs à la limite de détection.

L'exposition moyenne et des forts consommateurs (95^e percentile) adultes et enfants de la population générale a été estimée ainsi que celle la population végétarienne (tableau 16).

Tableau 16 : estimation des apports alimentaires moyens et des forts consommateurs (P95) pour différents types de population en patuline (EAT, 2004⁽²¹⁾).

Type de population		Apport moyen (µg/kg p.c./j)	Apport au P95 (µg/kg p.c./j)	% de la DJTP fixée par le SCF ¹	% d'individus pouvant dépasser la DJMTP
Population générale	Adultes (15 ans et +)	0,018	0,057	14	0
	Enfants (3-14 ans)	0,030	0,106	26	0
Population végétarienne (15 ans et +)	Ovolactovégétariens	0,044	0,100	25	0
	Lactovégétariens	0,050	0,120	30	0
	Végétaliens	0,034	0,090	22	0

¹ Le JECFA a fixé une DJMTP de 0,4 µg/kg p.c./j.

(21) Étude de l'alimentation totale française. Mycotoxines, minéraux et éléments traces. (2004). Rapport INRA/DGAL. Coordinateur Jean-Charles Leblanc.

À titre de comparaison, les données de contamination utilisée dans la Tâche scoop européenne⁽²²⁾ réalisée en 2002 (tableau 17) pour la population française conduisent à des niveaux d'exposition plus faibles que ceux observés dans l'étude de l'alimentation totale. Les différences observées peuvent s'expliquer par des limites de détection élevées et la prise en compte de produits à base de pomme (pâtisseries, fruits frais pris en compte dans l'étude EAT). Cependant, ces niveaux sont du même ordre de grandeur lorsque l'on considère l'ensemble de la population de l'Union européenne.

Tableau 17 : exposition alimentaire de la population française et de l'Union européenne (UE) à la patuline (µg/kg p.c./j) (Tâche Scoop, 2002)

Type de population		Exposition de la population française (µg/kg p.c./j)		Exposition de la population de l'UE (µg/kg p.c./j)	
		Moyenne	p95	Moyenne	p95
Population	Adultes	0,001	0,006	0,003	0,022
	Enfants	0,005	0,023	0,028	0,093
Seuls consommateurs	Adultes	0,005	0,014	0,021	0,057
	Enfants	0,013	0,049	0,064	0,199

Les aliments contributeurs à l'exposition de la population française à la patuline sont le jus de pomme, le cidre et les compotes. La population française semble moins exposée que l'ensemble de la population européenne, notamment l'Italie, où la population est la plus exposée.

Effets sur la santé animale et transfert dans les produits animaux

De nombreuses moisissures produisant de la patuline ont été isolées à partir d'ensilages et de céréales moisies. **Chez les ruminants**, la patuline présente à la concentration de 20 mg/L dans le rumen a un effet antibiotique sur les microorganismes du rumen et inhibe partiellement la digestion ruminale. L'ajout de composés portant un groupement « thiol » comme la cystéine ou la glutathione, permet de corriger la toxicité ruminale de la patuline. Des accidents à symptomatologie nerveuse ont été observés chez des ruminants recevant de l'orge maltée ou de l'ensilage sans que la patuline ait pu être directement incriminée. Il n'existe pas d'étude montrant la présence de patuline ou de ses métabolites dans le lait des ruminants.

Réglementation

Dans le cadre du 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, des teneurs maximales ont été fixées pour la patuline. Les teneurs maximales dans les produits sont de :

- 50 µg/kg pour les jus de fruits (y compris ceux reconstitués à base de concentrés), les nectars de fruits, les spiritueux et les cidres et autres boissons produites à base de jus de pommes et pommes,
- 25 µg/kg pour les produits solides à base de pommes (compotes, purées),
- 10 µg/kg pour les jus et produits à base de morceaux de pomme et
- 10 µg/kg pour les aliments (autres que ceux préparés à base de céréales) destinés au nourrisson et à l'enfant en bas âge.

Données de contamination

Des plans de surveillance et de contrôle sont réalisés chaque année par les services de l'État pour rechercher la patuline dans les aliments destinés à la consommation humaine, y compris la nourriture pour nourrissons et enfants en bas-âge, mais également dans les aliments destinés aux animaux. Dans les cas de non-conformité, les actions correctives sont entreprises telles qu'interdiction de mise le marché et saisie ou refus des lots contaminés à l'importation.

(22) Scoop report 3.2.8 (2002). Assessment of dietary intake of patulin by the population of EU Member States.

La patuline a été recherchée dans les produits à base de pomme, entre 1998 et 2004. Les résultats révèlent que les contaminations en patuline des jus de pomme (105 échantillons), des cidres et apéritifs à base de pomme (37 échantillons) sont proches de la limite réglementaire (respectivement 36,5 et 43,2 µg/L en moyenne). Les teneurs en patuline peuvent atteindre jusqu'à 730 µg/kg pour les jus de pomme et 450 µg/kg pour les cidres et apéritifs à base de pomme ; 12 % et 24 % des échantillons dépassent la limite réglementaire. La surveillance doit donc être maintenue sur ces produits.

Les compotes de pomme pour adultes et enfants en bas-âge, ainsi que les jus de pomme destinés aux enfants en bas-âge sont quant à eux dix fois moins contaminés et la teneur en patuline n'a pas pu être quantifiée dans plus de 85 % de ces 56 échantillons (LOQ = 5 µg/kg).

Conclusion

La patuline est un contaminant naturel des fruits, notamment de la pomme. L'exposition alimentaire à la patuline est très inférieure à la dose journalière maximale tolérable provisoire quelles que soient les catégories de population.

Cette toxine fait l'objet d'une réglementation pour de nombreux aliments et notamment pour les jus de fruits et compotes destinés aux enfants qui peut paraître protectrice pour le consommateur au regard des niveaux d'exposition observés.

L'exposition alimentaire des animaux d'élevage est vraisemblable chez les ruminants par la consommation des ensilages ou des écarts de tri de pommes. Toutefois, le danger réel chez l'animal demeure mal évalué, compte tenu de la méconnaissance de la toxicité et du devenir de cette toxine. Il serait souhaitable de mettre en place un plan de surveillance sur les aliments conservés par voie acide (ensilages de fourrages ou de grains, fourrages enrubannés) susceptible de favoriser le développement de champignons toxigènes.

Les études toxicologiques disponibles sont peu nombreuses et relativement anciennes. Des incertitudes demeurent quant au devenir de cette mycotoxine dont le suivi analytique est difficile dans les matrices biologiques. Des études de transfert de la patuline dans les produits animaux mériteraient d'être réalisées et des techniques de dosage permettant de suivre le devenir de la patuline dans les matrices biologiques d'origine animale devraient être mises au point.

En 2004, une étude chez le rat exposé à la patuline, rapporte des perturbations du statut des hormones stéroïdes circulantes corrélées à des atteintes testiculaire et thyroïdienne. Cette information mériterait d'être confirmée par des études complémentaires en raison du souci actuel des toxicologues à reconnaître le caractère perturbateur endocrinien d'un contaminant alimentaire.

Les autres mycotoxines

Il existe plusieurs mycotoxines qui, sans être largement répandues, présentent une importance pour les populations humaines et animales. Le tableau 18 illustre les mycotoxines pouvant avoir des impacts sanitaires potentiels, ainsi que les moisissures qui les produisent.

Tableau 18 : autres mycotoxines et moisissures productrices associées ayant des impacts ponctuels sur la santé animale

	Mycotoxines	Principales moisissures productrices
Mycotoxines pouvant être retrouvées dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux	Toxines de <i>Claviceps</i> (dit ergot de seigle)	<i>Claviceps purpurea</i> , <i>C. paspali</i> , <i>C. africana</i>
	Citrinine	<i>Aspergillus terreus</i> , <i>A. carneus</i> , <i>A. niveus</i> <i>Penicillium verrucosum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. expansum</i>
	Toxines d' <i>Alternaria</i>	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Alternaria solani</i>
	Acide cyclopiazonique	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. tamarii</i> <i>Penicillium</i> dont <i>P. camembertii</i> et <i>P. cyclopium</i>
	Toxines trémorgènes produites par <i>Penicillium</i> et <i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium roquefortii</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>P. puberulum</i> <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>A. fumigatus</i>
Mycotoxines principalement retrouvées en alimentation animale	Sporidesmines	<i>Pithomyces chartarum</i>
	Toxines de <i>Stachybotrys</i>	<i>Stachybotrys chartarum</i>
	Toxines d'endophytes	<i>Neotyphodium coenophialum</i> , <i>N. lolii</i>
	Phomopsines	<i>Phomopsis leptostromiformis</i>

Le tableau 19 illustre les mycotoxines responsables de mycotoxicoses animales, le nom des maladies qu'elles entraînent, ainsi que les substrats les plus fréquemment incriminés dans ces maladies et le(s) pays qui est (sont) le(s) plus sévèrement touchés par la maladie de par les pertes économiques qu'elles engendrent.

Tableau 19 : mycotoxines responsables de mycotoxicoses animales, substrats et pays touchés.

Mycotoxines	Mycotoxicose observée chez l'animal	Substrats les plus fréquemment contaminés	Pays le(s) plus fréquemment touché(s)
Sporidesmines	Eczéma facial des ruminants	Fourrages en fin de cycle (Dactyle, Ray Grass, et parfois Trèfle blanc) et débris végétaux au ras des pâtures	Nouvelle Zélande, Afrique du Sud, Australie, France
Stachybotryotoxines (trichothécènes macrocycliques)	Stachybotryotoxicose	Foins, pailles et ensilages mal stockés	Pays d'Europe de l'Est (Hongrie surtout)
Alcaloïdes (ergovaline)	Boiteries avec consommation de fétuque	Graminées fourragères du genre fétuque (<i>Festuca arundinacea</i>)	Nouvelle Zélande, États Unis
Alcaloïdes (lolitrem B)	Tremblements avec consommation de Ray-Grass	Graminées fourragères du genre Ray Grass anglais (<i>Lolium perenne</i>)	Nouvelle Zélande, États Unis
Phomopsines	Lupinose	Plantes fourragères de la famille des lupins (<i>Lupinus</i> spp.)	Australie

Des cas de maladies résultant de l'ingestion de ces mycotoxines ont déjà été rapportés en France, à l'exception de la lupinose. Ces intoxications sont donc à connaître dans notre pays, même si elles sont considérées comme exceptionnelles. C'est sans doute une des raisons pour lesquelles peu de données sont disponibles sur la prévalence naturelle de ces mycotoxines et la contamination des substrats incriminés.

Les toxines de *Claviceps purpurea*

Les champignons du genre *Claviceps* peuvent contaminer les céréales et les graminées fourragères dans tous les pays du monde. L'ergotisme dû à l'ergot dit du seigle (*C. purpurea*), a été responsable du feu de Saint Antoine chez l'homme du 8^e au 16^e siècle en Europe, provoquant la mort de centaines de milliers de personnes. Les derniers cas rapportés datent des années 1970 en Afrique et en Inde. Toutefois, le bétail est encore fréquemment touché de nos jours. Plus de 40 alcaloïdes ont été isolés de sclérotés de *Claviceps*. Ces dérivés peuvent être divisés en trois classes : les clavines, les ergopeptides (ergotamine) qui sont des dérivés de l'acide lysergique et les dérivés de l'acide isolysergique (ergotaminine).

Facteurs influençant la teneur en toxines de *Claviceps purpurea* dans les denrées

Les champignons du genre *Claviceps* appartiennent aux Ascomycètes et attaquent les inflorescences de la plupart des graminées. Ces champignons ont la capacité de former des amas mycéliens durs, appelés sclérotés ou ergots, remplaçant la graine, et qui contiennent des alcaloïdes responsables des maladies observées aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Les sclérotés assurent une conservation hivernale du champignon et portent au printemps les organes de la reproduction sexuée du champignon (périthèces donnant les ascospores). Leurs formes, dimensions et couleurs varient selon les espèces de *Claviceps* et les espèces de graminées atteintes. La sévérité de l'attaque dépend surtout de l'importance des résidus des sclérotés laissés au sol par la récolte précédente (le labour favorise leur dégradation, mais peut aussi faire remonter des ergots des années antérieures), du nombre de sclérotés présents dans le lot de semences semées (d'où l'intérêt de travailler avec des semences certifiées ou bien nettoyées), des conditions climatiques (la formation d'ergot étant favorisée par des températures de 20 °C et par une humidité relative de 100 %). Enfin, la sévérité de l'attaque dépend de la succession des cultures et de la gestion du désherbage des bordures de parcelle. Par ailleurs, le niveau de contamination des lots de grains dépend du triage sur des grilles ventilées : les ergots qui sont de grande taille et légers peuvent être éliminés facilement, mais il arrive que des fractions d'ergot cassées puissent subsister parmi les grains de céréales.

Propriétés toxicologiques des toxines de *Claviceps purpurea*

Les alcaloïdes de *Claviceps purpurea* tels que l'ergotamine ou l'ergométrine, provoquent la stimulation des muscles lisses en inhibant les récepteurs α et β adrénergiques. Cela induit une vasoconstriction des tissus périphériques. Le flux sanguin chute alors brutalement conduisant à une gangrène des extrémités. De plus, les ergopeptides, en agissant comme des agonistes de la dopamine, induisent une diminution du taux de prolactine sérique. Ceci entraîne des effets spécifiques comme une agalactie chez la mère et une diminution du gain de poids corporel chez le nouveau-né.

L'exposition humaine et animale aux toxines de *Claviceps purpurea*

En Europe, les toxines de *Claviceps purpurea* ne sont pas réglementées directement en alimentation humaine et animale mais indirectement par une réglementation sur la teneur en ergot des lots de céréales, limitant ainsi les risques d'intoxications liés à la consommation de céréales contaminées : En alimentation humaine, le froment tendre, le froment dur, l'orge, le maïs, le sorgho et le seigle mis à l'intervention ne doivent pas contenir plus de 0,05 % d'ergot (règlement (CEE) n° 689/1992) alors qu'en alimentation animale, les aliments ne doivent pas contenir plus de 1 g d'ergot par kg d'aliment contenant des céréales non moulues (directive 2002/32/CE).

Les problèmes d'ergotisme proviennent donc d'animaux consommant librement des aliments contaminés au pâturage ou à qui des céréales non contrôlées sont distribuées.

Conclusion

Les toxines de *Claviceps purpurea* ne semblent plus constituer un risque sanitaire majeur pour la santé de l'homme dans des conditions actuelles d'alimentation. Chez l'animal, même si le transfert des alcaloïdes dans les produits animaux est mal connu, la législation mise en place au niveau européen semble garantir l'intégrité de la santé en élevage et l'innocuité des produits d'origine animale.

Cependant, pour l'avenir, il y aurait également lieu de surveiller le niveau de contamination des céréales en raison de l'évolution des techniques culturales et de l'apparition de nouvelles variétés hybrides (fécondation allogame). De même, le niveau de contamination des lots de triticale dont la culture se développe devrait être

mieux connu. Enfin, si la culture du seigle diminue en France, il peut y avoir des importations massives de Pologne et d'Allemagne dont il serait souhaitable de connaître le niveau de contamination, même si ces importations sont soumises à la réglementation européenne.

Par ailleurs, certains pays européens souhaitent que la législation concerne des teneurs limites en telle ou telle toxine et non pas une teneur en ergot. Des discussions sont en cours au niveau Communautaire en ce sens pour baser la surveillance sur des niveaux en certains alcaloïdes indicateurs de l'ergot. Des données sont actuellement collectées pour connaître les teneurs en alcaloïdes (ergocristine, ergotamine, ergocriptine, ergométrine, ergosine et ergocornine) correspondant à une teneur de 1 g de sclérote dans 1 kg d'aliment pour animaux contenant des céréales non moulues. Il serait souhaitable que des laboratoires français ou des institutions participent à ce travail.

La citrinine

La citrinine (C₁₃-H₁₄-O₅) est un benzopyrane de poids moléculaire de 250 g/mol.

Facteurs influençant la teneur en citrinine dans les denrées

La citrinine est produite par différentes espèces d'*Aspergillus* (*A. terreus*, *A. carneus*, *A. niveus*) et de *Penicillium* (dont *P. citrinum*, *P. verrucosum* élaborant aussi l'ochratoxine A et *P. expansum* producteur de patuline). Elle est également synthétisée par le genre *Monascus*, champignon producteur de colorants naturels, utilisés traditionnellement dans les aliments orientaux.

Cette mycotoxine a été retrouvée à des teneurs de 0,07 à 80 mg/kg dans de l'orge, de l'avoine, du seigle, du blé. Elle peut aussi contaminer le maïs, le riz, les noix, les arachides, les graines de tournesol, les fruits secs, le jus de pomme, produits secs de salaisonnerie et les fromages.

Propriétés toxicologiques de la citrinine

Si la citrinine semble faiblement absorbée par le tractus gastro-intestinal chez le rat, l'organe cible est le rein. Toutefois, lors d'exposition à des teneurs élevées, des lésions hépatiques sous forme d'infiltrations lipidiques ont été observées.

La citrinine est néphrotoxique chez toutes les espèces animales étudiées mais la toxicité aiguë varie en fonction de l'espèce testée : la DL₅₀ par voie orale est de 50 mg/kg chez le rat, de 57 mg/kg chez le canard, de 95 mg/kg chez le poulet et de 134 mg/kg chez le lapin. L'autopsie des lapins, cobayes, rats et porcs, montre une augmentation du volume des reins et une nécrose tubulaire. Ces effets semblent dépendre de la dose et du temps.

En toxicité chronique, de faibles concentrations de citrinine (0,02 mg/kg p.c./j) administrées par voie intragastrique à des porcs pendant 57 jours n'ont pas entraîné d'effets cliniques ni de lésions histopathologiques.

Chez la souris, la citrinine est embryotoxique et fœtotoxique après injection à des doses maternotoxiques. Chez le rat, elle induit des effets similaires et de fortes doses sont également tératogènes. La citrinine est retrouvée inchangée dans des fœtus de rats dont la mère avait reçu de la toxine radiomarquée, prouvant ainsi que les effets reprotoxiques de la citrinine sont dus au composé parent et non à un de ses métabolites.

Des résultats aussi bien positifs que négatifs ont été obtenus sur le caractère génotoxique de cette toxine. Une étude de cancérogenèse réalisée en 1983 a conduit le CIRC à classer cette mycotoxine dans le groupe 3.

Exposition humaine et animale à la citrinine par voie alimentaire

Aucune donnée n'est disponible sur les effets de la citrinine chez l'homme. Elle est instable dans les céréales mais stable dans les fromages et les produits secs de salaison.

En raison de sa présence conjointe avec l'OTA, la citrinine a été impliquée dans la néphropathie porcine observée au Danemark, en Suède, en Norvège et en Irlande, et dans les néphropathies aviaires. Des symptômes similaires ont été obtenus chez des porcs consommant un aliment contenant 200 à 400 mg/kg de citrinine pendant 1 à 2 mois. Cette synergie a été démontrée expérimentalement chez le chien. Toutefois, l'implication de la citrinine seule dans la néphropathie semble mineure en raison de sa faible prévalence naturelle dans les aliments.

De même, la citrinine pourrait être impliquée au même titre que l'OTA dans la néphropathie endémique des Balkans (BEN). La BEN est caractérisée par une dégénération tubulaire, une fibrose interstitielle et une hyalinisation des glomérules accompagnée par une enzymurie, des maux de tête fréquents, des douleurs lombaires, une asthénie mais aussi une anémie, une perte de poids, une absence d'hypertension, une xanthodermie et une polyurie.

Conclusion

Il est peu probable que la citrinine présente un risque pour l'homme. Le risque d'intoxication provient surtout de la consommation de céréales contaminées utilisées à l'état brut en alimentation animale, et particulièrement dans l'alimentation des porcs et des volailles.

Les toxines d'*Alternaria*

Les moisissures du genre *Alternaria* sont mondialement répandues dans les cultures, dans le sol ou dans les déchets alimentaires ménagers.

Seules les toxines d'*Alternaria* pouvant avoir un impact sur la santé humaine et animale par l'ingestion d'aliments contaminés, du fait de leur prévalence naturelle ou de leur toxicité sont envisagées dans ce document. Il s'agit des alternariol (AOH), alternariol méthyl éther (AME), acide ténuazonique, alténuène, alertoxines (1 à 3 avec prédominance de l'alertoxine 1 dans les aliments) et des toxines d'*Alternaria alternata f. sp. lycopersici* (toxines AAL).

Il est important de mentionner d'emblée que d'après les données disponibles, la présence de ces toxines dans les aliments serait très faible : l'exposition de l'homme et des animaux serait donc limitée. Toutefois, les études toxicologiques expérimentales montrent que la toxicité de certaines d'entre elles est avérée.

Facteurs influençant la teneur en toxines d'*Alternaria* dans les denrées

Alternaria alternata est le champignon producteur le plus fréquemment retrouvé dans les denrées alimentaires. Les fruits et les légumes sont susceptibles d'être contaminés par *Alternaria* aussi bien au champ qu'après la récolte : il s'agit des produits dérivés de pommes et de tomates mais la moisissure a également été identifiée sur des graines de tournesol, les olives et le colza. *Alternaria* se développe beaucoup plus facilement sur les fruits abîmés ou lors d'un stress dû au froid.

Sur les tomates qui sont facilement contaminées par *A. alternata*, on retrouve majoritairement de l'AOH et de l'AME.

Propriétés toxicologiques des toxines d'*Alternaria*

Différents métabolites synthétisés par *Alternaria* présentent à fortes doses des effets phytotoxiques, cytotoxiques, insecticides, antiviraux, antifongiques, antibactériens, mutagènes, tératogènes ou fœtotoxiques.

L'acide ténuazonique est le métabolite le plus étudié en raison de la disponibilité des techniques permettant sa production et son isolement de cultures fongiques. De plus, il s'agit du métabolite le plus toxique.

Les toxines AAL sont également connues en raison de leurs similarités structurales avec les fumonisines. Toutefois, bien que leur implication dans la maladie de la tomate (rhizoctone brun) soit avérée, aucun cas de pathologie humaine ou animale n'a été rapporté.

Exposition de l'homme aux toxines d'*Alternaria* par voie alimentaire

Les moisissures du genre *Alternaria* posent un problème en santé humaine car ce sont de puissants allergènes qui peuvent augmenter la sévérité de l'asthme, principalement chez les enfants qui y sont fortement exposés. En revanche, aucun cas avéré de mycotoxicose humaine dû à l'ingestion d'aliments contaminés par des toxines d'*Alternaria* n'a été rapporté.

Quelques études suggèrent toutefois qu'elles pourraient être impliquées dans certaines affections humaines, notamment le cancer de l'œsophage au Linxian, en Chine. En effet, *Alternaria alternata* est fréquemment retrouvée dans les grains de cette région de Chine où une incidence élevée de cancer de l'œsophage est signalée. Elle serait aussi impliquée dans l'Onyalai, une maladie à impact hématologique qui sévit dans certaines régions d'Afrique.

Conclusion

Si une attention doit être maintenue sur la qualification des propriétés toxiques de ces toxines, et sur leur occurrence, les données de contamination restant peu nombreuses, il n'existe pas actuellement de raison objective de considérer leur danger comme une priorité en sécurité sanitaire des aliments destinés à l'homme ou aux animaux d'élevage.

L'acide cyclopiazonique

L'acide cyclopiazonique (C₂₀H₂₀N₂O₃) est un acide indole tétramique de poids moléculaire de 336 g/mol.

Facteurs influençant la teneur en acide cyclopiazonique dans les denrées

L'acide cyclopiazonique (CPA) est une mycotoxine produite par différentes espèces d'*Aspergillus*, notamment *Aspergillus flavus* et *A. tamarii*. Il peut de ce fait être co-synthétisé avec les aflatoxines également produites par ces moisissures. La présence commune de l'acide cyclopiazonique et de l'aflatoxine B₁ a été rapportée dans de nombreuses denrées, particulièrement le maïs et les arachides qui sont des substrats fréquemment contaminés par *A. flavus*. L'acide cyclopiazonique peut être synthétisé en outre par des *Penicillium*, notamment *Penicillium camemberti* et *P. cyclopium*. Cette toxine a été identifiée dans de nombreux aliments tels que les céréales, le fromage et les produits de salaisonnerie.

Propriétés toxicologiques de l'acide cyclopiazonique

L'acide cyclopiazonique possède des propriétés lipophile et acide, ce qui facilite son passage à travers les membranes biologiques. Il est donc susceptible de subir une absorption rapide et une large distribution dans les tissus.

Les principaux symptômes rapportés suite à une intoxication aiguë par le CPA chez les mammifères sont des ptosis (chute de la paupière supérieure par paralysie du releveur), de l'hypokinésie, de l'ataxie, de l'hypothermie, des tremblements, des convulsions et une diminution de la prise alimentaire. Les DL₅₀ par voie orale sont les suivantes : 64 mg/kg p.c. chez la souris femelle, 36 mg/kg p.c. chez le rat mâle, 63 mg/kg p.c. chez le rat femelle et 12 mg/kg p.c. chez le poulet et la poule.

Concernant la toxicité chronique, les premiers signes cliniques (diminution de la prise alimentaire et du gain de poids corporel) apparaissent entre 1 et 5 mg/kg p.c./j et dépendent de l'âge de l'animal, mais aussi de la voie et de la durée d'administration de la toxine.

Si les résultats concernant la mutagénicité de l'acide cyclopiazonique sont contradictoires, celle de l'aflatoxine B₁ est inhibée en sa présence lors de l'évaluation par le test d'Ames avec activation métabolique. Il semblerait que le CPA puisse inhiber l'activité des cytochromes P450 de la forme 3A₄, ce qui expliquerait la moindre toxicité de l'aflatoxine B₁ en cas de contamination croisée. Par ailleurs, en raison de l'absence de données fiables, des études appropriées devraient être entreprises afin de statuer sur la cancérogénicité du CPA.

L'exposition humaine et animale à l'acide cyclopiazonique

Les données disponibles ne sont pas suffisantes pour effectuer une étude d'exposition générale humaine au travers de l'alimentation. Néanmoins l'Homme est susceptible d'être directement exposé à l'acide cyclopiazonique à travers la consommation de céréales et de certains fromages ou produits de salaisonnerie affinés par des moisissures productrices de CPA et indirectement exposé à travers la consommation de viande, de lait et d'œufs d'animaux ayant consommé des aliments contaminés.

Peu de cas d'intoxications naturelles dues à l'ingestion de CPA ont été rapportés chez les animaux d'élevage, ce constat étant à mettre en relation avec les niveaux de contamination observés dans les aliments et les teneurs nécessaires à l'apparition de signes cliniques (voir ci-dessus).

Conclusion

Il est peu probable que l'acide cyclopiazonique présente un risque sanitaire majeur pour l'homme. Le risque d'exposition provient surtout de la consommation de céréales contaminées. En Amérique du Nord, la présence de ce co-contaminant de l'aflatoxine B₁ est considérée sans conséquences néfastes car il est supposé atténuer le danger des aflatoxines en participant à leur inhibition métabolique.

Les toxines trémorgènes d'*Aspergillus* et de *Penicillium*

De nombreuses mycotoxines produites par *Aspergillus* et *Penicillium* possèdent des propriétés trémorgènes. Les symptômes neurologiques vont de la confusion mentale à des tremblements, des crises d'épilepsie et parfois jusqu'à la mort. Les cas d'intoxications rapportés chez les animaux de rente sont nombreux. Les toxines les plus souvent incriminées dans ces intoxications sont le penitrem A et la roquefortine. D'autres toxines trémorgènes comme l'aflatrem, les fumitremorgines et le verruculogène sont également étudiées en raison de leur toxicité potentielle, le verruculogène étant la plus toxique et la plus étudiée de ce groupe de mycotoxines.

Facteurs influençant la teneur en toxines trémorgènes dans les denrées

De nombreuses espèces de moisissures sont capables de synthétiser des mycotoxines trémorgènes comme l'illustre le tableau 20.

Tableau 20 : moisissures productrices de toxines trémorgènes.

Mycotoxine	Moisissures productrices
Penitrem A	<i>Penicillium cyclopium</i> , <i>P. verruculosum</i> , <i>P. crustosum</i>
Penitrem E	<i>P. crustosum</i>
Aflatrem	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. clavatus</i>
Roquefortine	<i>P. commune</i> , <i>P. palitans</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>P. roqueforti</i>
Verruculogène	<i>P. verruculosum</i> , <i>P. simplicissimum</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>A. caespitosus</i>
Verrucosidine	<i>P. verruculosum</i> var. <i>cyclopium</i>
Fumitremorgine A, B	<i>P. brasilianum</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. caespitosus</i> , <i>Neosartorya fischeri</i>

Les mycotoxines trémorgènes ont été isolées sur du maïs, des ensilages et différents fourrages. Elles ont également été retrouvées dans de la bière, du fromage frais, des noix, mais également sur de la viande fermentée.

Propriétés toxicologiques des toxines trémorgènes

Les moutons et les porcs ont des réactions différentes aux trémorgènes. Une dose orale de verruculogène de 3,0 µg/kg p.c. induit des tremblements chez le mouton, alors que ces symptômes ne sont observés chez le porc que pour des doses deux fois plus importantes. Une dose de verruculogène de 13,3 µg/kg p.c. est létale pour le mouton, après défaillance respiratoire et circulatoire faisant suite aux convulsions. Le penitrem A est moins toxique, des doses orales de 25 µg/kg p.c. chez le porc ou le mouton ne produisant que des tremblements sans mortalité.

Des études *in vitro* sur des synaptosomes ont montré que le verruculogène et le penitrem A augmentent la libération spontanée de glutamate et d'aspartate endogènes, deux neurotransmetteurs excitateurs et diminuent la libération d'acide γ-aminobutyrique (GABA), un inhibiteur des décharges neuronales. Il a également été montré

que les anesthésies aux barbituriques bloquent les effets de doses létales de trémorgènes par inhibition du système GABA-ergique.

La toxicité de la roquefortine et de la PR toxine n'a été envisagée que par voie intra péritonéale chez la souris, sans possibilité de conclusions réelles pour ces contaminants alimentaires.

Étude de l'exposition humaine et animale aux toxines trémorgènes

La roquefortine et la PR toxine sont deux mycotoxines trémorgènes produites par *Penicillium roqueforti*, dont certaines souches sont utilisées dans la maturation des fromages de type bleu. Toutefois la PR toxine est instable dans le fromage et réagit avec l'ammoniaque et les acides aminés libres, composés présents à fortes concentrations dans cette matrice alimentaire. De la roquefortine a pu se retrouver dans les fromages de type bleu, jusqu'à des concentrations de 6,8 mg/kg. Aujourd'hui, les souches de *P. roqueforti* sont sélectionnées afin d'être dépourvues de pouvoir toxigène. Bien que *P. roqueforti* soit présent sur les céréales conservées dans des conditions acides et dans les ensilages fermentés, il semble que cette toxine n'ait pas été isolée sur des céréales ou des aliments destinés aux animaux.

Lors d'intoxications naturelles par des mycotoxines trémorgènes produites par *Aspergillus* et *Penicillium* touchant les animaux domestiques et d'élevage, le penitrem A et la roquefortine sont les mycotoxines le plus souvent incriminées. Les traitements préconisés à l'ingestion de toxines trémorgènes visent principalement à réduire l'absorption et à contrôler tremblements et crises d'épilepsie. Ils consistent en l'administration de méthocarbamol et de pentobarbital conduisant à un rétablissement complet et sans séquelles.

Conclusion

La forte toxicité avérée chez l'animal du verrucologène et du penitrem conduit à s'interroger sur leur occurrence en alimentation animale et donc sur le risque qu'ils représentent. Et par transposition, la même interrogation pourrait se poser les concernant sur l'appréciation du risque en alimentation humaine.

Les sporidesmines

Les sporidesmines sont synthétisées par *Pithomyces chartarum*, moisissure endémique des pâtures dans certaines régions du monde dont le Pays Basque en France. Elles sont à l'origine de la sporidesmiotoxicose, communément appelée « eczéma facial des petits ruminants ». Cette affection est observée chez tous les herbivores, les ovins étant les plus sensibles. En plus d'une atteinte clinique caractérisée par un eczéma de photosensibilisation avec ictère secondaire à une atteinte hépatique, elles entraînent une diminution des performances zootechniques.

Propriétés physico-chimiques et méthodes d'analyse des sporidesmines

De nombreuses sporidesmines A, B, C, D, E, F, G, H, I et J de masses moléculaires comprises entre 450 et 500 g/mol peuvent être isolées ; la sporidesmine A est la plus abondante (plus de 80 % du total). Ce sont des dicétopipérazines aromatiques chlorées contenant un pont disulfure, probablement issues d'une condensation du L-tryptophane avec la L-alanine. Elles sont hydrophobes et instables en solution alcoolique ou aqueuse. De nombreuses méthodes sont utilisables pour identifier et doser les sporidesmines provenant d'une extraction méthanolique de culture de *Pithomyces chartarum*. Historiquement, leur présence était révélée par leur cytotoxicité chez le cobaye et le lapin. Ces méthodes ont été remplacées par la CCM puis par la CLHP en phase inverse et la CPG, avec des sensibilités de l'ordre du µg/kg. Toutefois, il n'existe aucune méthode de référence et aucune méthode ne permet le dosage direct dans l'herbe.

Facteurs influençant la teneur en sporidesmines dans les denrées

Les sporidesmines apparaissent avec les premières pluies d'automne après un été chaud et sec, sur des prairies dites « à risque ». Il s'agit le plus souvent de Dactyle, de Ray Grass et parfois de Trèfle blanc. L'absence de fauche au cours de l'année et le surpâturage en septembre sont des facteurs additionnels de risque. La maladie n'a été observée jusqu'à présent que dans un nombre restreint de pays (Nouvelle Zélande, le plus touché, Australie, Afrique du Sud, Uruguay, Argentine, France).

Le taux de production de toxines est généralement proportionnel à la sporulation du champignon ; ainsi la prophylaxie de l'affection peut être réalisée en comptant les spores récoltées sur les pâtures. Un résultat compris entre 80 000 à 100 000 spores par gramme d'herbe humide est considéré comme dangereux. Lors d'exposition chronique, une pâture contenant 40 000 spores par gramme est susceptible d'entraîner un eczéma facial. Cette méthode de prophylaxie a ses limites, car certaines souches ne produisent pas de toxines bien qu'ayant une intense sporulation.

Devenir et propriétés toxicologiques des sporidesmines

Le taux d'absorption des sporidesmines est méconnu ; leur excrétion se fait par voie biliaire et urinaire avec des concentrations respectivement 100 et 10 fois supérieures aux concentrations plasmatiques. Aucune donnée n'est disponible sur l'excrétion lactée ou leur persistance à l'état résiduel.

La sporidesmine A n'est pas mutagène dans le test d'Ames mais elle est considérée comme potentiellement clastogène *in vitro* sur cellules en culture. Ces derniers résultats n'ont pas été confirmés *in vivo* chez le mouton et la souris. Aucune donnée n'est disponible concernant les effets cancérogènes.

Le mécanisme d'action cytotoxique des sporidesmines serait non spécifique : peroxydation lipidique et destruction des membranes cellulaires. L'atteinte hépatique serait liée à l'accumulation de ces toxines dans les voies biliaires. Elles entraînent une cholestase qui empêche l'élimination de la phylloérythrine, produit de dégradation de la chlorophylle. Ce composé s'accumule et provoque la destruction par réaction radicalaire des membranes cellulaires des épithéliums exposés au soleil (il s'agit d'un pigment photodynamique qui devient réactif après exposition aux ultra-violets). L'inflammation œdémateuse qui fait suite à l'apparition de l'érythème chez les ruminants débute généralement par les oreilles pour s'étendre à toutes les régions dépigmentées : les paupières, les orifices nasaux. La respiration est bruyante et difficile, la prise de nourriture est douloureuse. La morbidité est variable (0 à 100 %) en fonction du troupeau et de l'année, de même que la mortalité. Une diminution importante de la production de lait et de laine est observée. Les activités des enzymes hépatiques telles la phosphatase alcaline (PAL) et la gamma-glutamyl-transpeptidase (GGT) peuvent être augmentées d'un facteur égal ou supérieur à 10. Le traitement nécessite la mise à l'ombre et l'emploi de protecteurs hépatiques non spécifiques. Le contrôle de cette affection nécessite un labour des pâtures atteintes mais l'éradication totale semble difficile.

Conclusion

La présence de sporidesmines présente un réel problème sanitaire pour certaines productions animales, notamment les ovins. La toxicologie est relativement préoccupante, le risque sanitaire pour l'homme est peu connu et peu d'informations sont disponibles sur le passage dans les produits animaux. Il serait donc important de connaître le devenir des sporidesmines chez l'animal et de mettre en place des recherches sur le transfert dans le lait.

Les stachybotryotoxines

Les toxines synthétisées par *Stachybotrys chartarum* (ou *Stachybotrys atra*, *S. alternans*) sont des trichothécènes macrocycliques, responsables de la stachybotryotoxicose. Cette affection touche tous les herbivores, mais aussi les porcins et les volailles en contact avec des pailles contaminées. Les chevaux sont les plus sensibles. Deux formes sont différenciées selon la durée d'évolution et/ou d'exposition. La forme chronique, la plus fréquente, se caractérise par des signes cutanés et muqueux de nécrose limités à la face. La forme suraiguë, rare, entraîne la mort des animaux en quelques heures.

Stachybotrys chartarum est également responsable de troubles pulmonaires chez l'homme dus à l'inhalation de spores contenant des toxines. Cet aspect sanitaire de la toxicité de la moisissure non alimentaire ne sera pas traité ici.

Propriétés physico-chimiques et méthodes d'analyse des stachybotryotoxines

Stachybotrys chartarum produit une large variété de trichothécènes macrocycliques : principalement des satratoxines F, G et H et en quantité moindre des isosatratoxines F, G et H, roridine E, et verrucarine J ainsi que des trichothécènes simples, tels la trichodermine et le trichodermol précurseurs des précédents et des spiro lactones, des spiro lactames et des cyclosporines. Les satratoxines sont des lactones époxydées neutres, liposolubles, très peu hydrosolubles. Leur hydrolyse libère du verrucarol. La satratoxine H est la plus polaire des toxines produites, sa masse moléculaire est de 528 g/mol.

De nombreuses méthodes sont utilisables pour identifier et doser les trichothécènes provenant d'une extraction de culture de *Stachybotrys chartarum*. Historiquement, leur présence était révélée par leur cytotoxicité chez le cobaye et le lapin. Ces méthodes ont été remplacées par la CCM puis la CLHP et la CPG, et enfin les techniques de CL-SM ou CG-SM. Des tests biologiques sur cultures de cellules ou d'*Artemia salina* sont toujours réalisés. Il n'existe aucune méthode de référence et aucune méthode ne permet le dosage direct dans les aliments ou la recherche de résidus.

Facteurs influençant la teneur en stachybotryotoxines dans les denrées

Stachybotrys chartarum est un saprophyte qui se développe principalement sur les matériaux riches en cellulose tels que les pailles et les fourrages lors d'un stockage exposé aux intempéries ou de ré-humidification accidentelle. La paille est responsable de la plupart des cas de stachybotryotoxicoses animales. Bien que la contamination survienne le plus souvent dans les climats continentaux (Europe de l'Est surtout), elle s'observe également dans les régions à climat doux et chaud (Sud Ouest de la France et Maroc). La fréquence des souches toxigènes est variable selon les pays et relativement faible en France (15 %).

Devenir et propriétés toxicologiques des stachybotryotoxines

Aucune donnée n'est disponible sur le devenir des trichothécènes macrocycliques dans l'organisme animal. Ces composés sont parmi les plus cytotoxiques des trichothécènes. Ce sont des inhibiteurs de synthèse protéique dont les cibles principales sont les cellules à forte activité mitotique, telles que les leucocytes. Les DL₅₀ chez la souris sont variables en fonction de la nature des toxines et des voies d'exposition. Elles varient de 1 à 7 mg/kg. La satratoxine H est la plus cytotoxique. Immunosuppression et hémorragies sont les symptômes les plus fréquents quelles que soient l'espèce animale et la voie d'exposition.

Toutes les espèces animales peuvent être atteintes, les bovins semblent les plus résistants et les équidés les plus sensibles. Chez ces derniers, l'ingestion de 200 g à 1 kg de paille contaminée provoque la mort par défaillance cardiaque en moins de 24 heures (forme suraiguë), précédée d'agitation, tremblements, coliques. La forme la plus typique s'observe lors de l'ingestion prolongée de faibles quantités d'aliments contaminés. Elle évolue en trois stades, précédés d'une phase asymptomatique durant laquelle les performances sont réduites. Hyperesthésie, rhinite et légère conjonctivite avec des squames sur les lèvres sont les premiers signes observés. Le premier stade dure 8 à 30 jours. Gorge, nez et muqueuse buccale présentent des signes de nécrose et d'ulcération. Si rien n'est fait, le second stade commence et dure 15 à 20 jours. Il se caractérise par le développement progressif d'une leucopénie et d'une thrombopénie, avec diminution des facteurs de coagulation. Des nécroses sont fréquemment observées au niveau des muqueuses orales. Le troisième et dernier stade dure 1 à 6 jours et se caractérise par une forte fièvre, des diarrhées fréquentes, une agranulocytose. La mort survient par surinfection bactérienne. On constate une dégénérescence hépatique, rénale et myocardique, ainsi qu'une atrophie des organes lymphoïdes avec hypoplasie médullaire. Aucun traitement n'est possible en phase terminale. En revanche, si le diagnostic est précoce, la maladie rétrocède en quelques jours sans séquelle apparente après le retrait de l'aliment incriminé. Sa prophylaxie passe par le contrôle des conditions de stockage des pailles et des aliments.

Conclusion

Les stachybotryotoxicoses sont des affections des équidés dont la prévalence est difficile à évaluer. Si ces affections chez l'homme sont bien connues lors d'exposition par inhalation ou contact, il y a peu de préoccupations à avoir en terme d'exposition humaine par voie alimentaire.

Les toxines d'endophytes

Les champignons endophytes du genre *Neotyphodium* peuvent synthétiser deux groupes de mycotoxines : des toxines ergotiques à action vasoconstrictrice et dopaminergique (ergovaline principalement) et des toxines trémorgènes (lolitrème B). Ces toxines, qui peuvent coexister au sein d'un même fourrage (pâturage ou foin), sont responsables de boiteries lors de consommation de fétuque infestée par *N. coenophialum* (fécue foot disease) et de tremblements lors de consommation de ray-grass infesté par *N. lolii* (Rye-grass stagger disease). Les intoxications de ruminants par les toxines d'endophytes sont très fréquentes aux États-Unis et en Nouvelle Zélande. En revanche, bien que la présence de champignons endophytes dans les graminées en France soit un phénomène connu, l'intoxication aiguë est relativement rare en raison du petit nombre de prairies temporaires ne comportant que du ray grass ou de la fétuque. Les cas d'intoxication observés auraient été provoqués par la consommation de gazons sélectionnés pour contenir des endophytes afin de les rendre plus résistants.

Facteurs influençant la teneur en toxines d'endophytes dans les denrées

Les maladies d'herbage sont plus fréquentes au printemps, lorsque l'herbe croît rapidement. Les pâtures fortement fertilisées par des niveaux élevés d'azote ou dont les sols en sont naturellement riches constituent un facteur additionnel de risque.

L'ergovaline est stable pendant plusieurs années.

En ce qui concerne la contamination du ray-grass par le lolitrem B en particulier, il a été montré que les concentrations en toxines augmentent avec l'âge de la plante et/ou de la feuille.

Propriétés toxicologiques des toxines d'endophytes

L'absorption gastro-intestinale des ergotiques est faible, et l'élimination est majoritairement urinaire. Leur mode d'action principal est une vasoconstriction pouvant conduire à une nécrose des extrémités. On note également une diminution de la dissipation thermique, d'où une augmentation de la température corporelle.

Les ergotiques sont reprotoxiques de par leur action sur la prolactine (neurohormone impliquée dans la lactation, la croissance, les réponses immunitaires et l'osmorégulation) et l'altération de certaines hormones hypophysaires importantes chez les bovins.

Le lolitrem B induit des effets neurologiques (incoordination, tremblements plus ou moins intenses en fonction de la teneur en toxines). Il exerce en outre une action myostimulante sur les fibres musculaires de l'intestin et du réticulorumen. Enfin, l'augmentation du niveau sérique d'Aspartate-Amino-Transférase (ASAT) témoigne de son action sur les fibres musculaires.

Les premiers signes chez les ruminants apparaissent dès 50 ng d'ergovaline par gramme d'herbe. L'affection est le plus souvent sub-clinique et se traduit par une diminution des performances. Par exemple, pour les bovins, la perte de production laitière est estimée à 0,15 L par jour pour chaque augmentation de 10 % du niveau d'infestation de la pâture. De même, le taux de gestation chez une vache consommant du fourrage endophyté diminue à 55 % (au lieu de 96 % normalement).

Les signes de tétanie liés à la consommation de ray-grass contaminé s'observent chez les bovins et les ovins, lorsque les concentrations de lolitrem B atteignent 2 à 2,5 µg/g de matière sèche tandis que chez les équins, il faut une teneur supérieure à 5,3 µg/g.

Si la morbidité liée aux maladies d'herbage peut être importante, la mortalité est généralement faible. Il n'existe pas de traitement spécifique ; si elles sont diagnostiquées à temps, ces maladies sont réversibles et les animaux guérissent en quelques semaines après le retrait des aliments incriminés.

Par ailleurs, très peu de données chiffrées concernant l'éventuelle excrétion lactée de la toxine et l'éventuelle présence de résidus dans les tissus ont été publiées. Quelques études montrent toutefois que le taux excrété dans le lait semble assez faible. Ainsi, le risque de contamination du consommateur humain via le lait d'animaux nourris avec un fourrage endophyté apparaît donc très limité. Toutefois, lors d'une exposition chronique des animaux, les quantités excrétées dans le lait pourraient augmenter.

Exposition humaine et animale aux toxines d'endophytes par voie alimentaire

Aucune information n'est disponible en ce qui concerne les effets des toxines d'endophytes chez l'homme.

Conclusion

Le risque d'intoxication provient de la consommation de fourrages verts contaminés par les ruminants, particulièrement les bovins. Ces toxines peuvent être responsables de pertes de productivité pour les animaux atteints. Il est peu probable que les toxines d'endophytes présentent un risque pour l'homme. Cependant, des recherches devraient être menées afin de confirmer l'absence de risque pour l'homme.

Les phomopsines

Les phomopsines appartiennent à la famille des hexapeptides macrocycliques. La phomopsine A dotée de deux fonctions carboxyliques ($C_{36}H_{45}ClN_6O_{12}$, poids moléculaire : 789,2 g/mol) représente plus de 80 % de la production totale de phomopsines.

Facteurs influençant la teneur en phomopsines dans les denrées

Les phomopsines sont synthétisées par *Phomopsis leptostromiformis* (aussi nommé *Diaporthe toxica*). Ces mycotoxines contaminent les lupins, légumineuses utilisées en alimentation animale et qui constituent l'hôte principal du champignon. Celui-ci reste viable pendant au moins deux ans dans les graines contaminées. Il semblerait que le développement de cette moisissure soit favorisé par une humidité importante et une température d'environ 25°C, tandis que l'optimum de sporulation se situerait à 18°C. Dans les variétés de lupins les plus sensibles, les niveaux de phomopsines peuvent atteindre 217 mg/kg. En Australie, où la lupinose cause le plus de pertes économiques, des essais ont été conduits afin de développer des variétés de lupin résistantes à la contamination par *Phomopsis*.

Propriétés toxicologiques des phomopsines

La lupinose se caractérise par d'importantes altérations hépatiques pouvant entraîner une photosensibilisation secondaire. Cette maladie est principalement due à la phomopsine A car il s'agit de la toxine produite en majorité par *Phomopsis leptostromiformis*, laquelle se révèle cinq fois plus toxique que la phomopsine B.

Peu de données sont disponibles concernant l'absorption, le métabolisme, la distribution et les voies d'excrétion des phomopsines chez l'animal. Expérimentalement, aussi bien *in vivo* chez les rongeurs, le porc ou le mouton, qu'*in vitro* sur différentes lignées cellulaires (HeLa humaines, CV₁ de singe et hépatocytes de rats qui sont les plus sensibles à la toxine), il a été montré que la phomopsine A inhibe la polymérisation de la tubuline et induit de façon dose-dépendante la dépolymérisation des microtubules préformés.

Les études de mutagenèse *in vitro* révèlent que la phomopsine A purifiée n'induit pas de mutations géniques sur bactéries mais qu'elle agit comme un clastogène potentiel sur cellules de mammifères. En effet, les résultats des tests d'induction de micronoyaux et de synthèse non programmée d'ADN menés sur cellules de hamster chinois sont positifs. Il n'existe aucune donnée concernant les effets cancérogènes des phomopsines chez les ruminants ou les animaux de laboratoire.

L'exposition humaine et animale aux phomopsines par voie alimentaire

Aucune information n'est disponible en ce qui concerne les effets des phomopsines chez l'homme. En revanche, les ruminants et les chevaux consommant de grandes quantités de graines de lupin de certains pays sont concernés par la lupinose. Toutefois, ce sont les ovins qui sont les plus sévèrement et les plus fréquemment touchés. La gravité de la maladie dépend de la quantité de toxines contenue dans le lupin consommé, de la durée de consommation ainsi que de la sensibilité individuelle de l'animal. Des cas cliniques de lupinose animale ont été rapportés en Espagne, en Allemagne, en Europe centrale, aux États-Unis, en Afrique du Sud et en Nouvelle Zélande. L'Australie est touchée quasiment chaque année par la lupinose ovine depuis 1950. Les phomopsines ont été évaluées par l'Agence Australienne et Néo-Zélandaise de Sécurité Alimentaire. Bien que la majorité des graines de lupin soit destinée à l'alimentation animale, elles sont introduites de plus en plus dans l'alimentation humaine pour leur composition qui présente des teneurs élevées en protéines, en fibres et en acides gras essentiels. C'est pourquoi l'Australie a établi une limite réglementaire de 5 µg de phomopsines par kilogramme de tout aliment destiné à l'homme.

Conclusion

Le risque d'intoxication provient surtout de la consommation de graines de lupin contaminées utilisées en alimentation animale. Aucun cas n'a été rapporté en France mais la vigilance doit être maintenue en raison de l'importation croissante de graines et de tourteaux provenant de divers pays et de leur utilisation en alimentation animale. Il est peu probable que les phomopsines présentent un risque pour l'homme. Toutefois, en raison du profil toxicologique de ces toxines, il conviendrait de réaliser des études de transfert dans les productions animales.

Conclusions et recommandations

En 1998, le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France avait rédigé un rapport qui faisait le point des connaissances sur les mycotoxines. L'impact des mycotoxines sur l'alimentation et la santé animales n'avait pas été abordé dans ce document. Depuis cette date, de nombreuses publications et l'acquisition de données de contamination au travers de la surveillance ont permis de mieux connaître certaines mycotoxines, leur impact sur la santé humaine et animale et d'estimer les niveaux d'exposition alimentaire.

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a décidé de procéder à une revue des connaissances disponibles sur les mycotoxines ayant un impact sur la santé humaine et/ou animale, d'évaluer les risques liés aux mycotoxines entrant dans la chaîne alimentaire humaine et animale et d'émettre certaines recommandations.

Les comités d'experts spécialisés « Résidus et contaminants chimiques et physiques » et « Alimentation animale », émettent les recommandations suivantes.

Les mycotoxines

Les mycotoxines sont des produits du métabolisme secondaire de moisissures pouvant se développer sur la plante au champ ou en cours de stockage et doués de potentialités toxiques à l'égard de l'homme et des animaux. Ces toxines se retrouvent à l'état de contaminants naturels de nombreuses denrées d'origine végétale, les céréales mais aussi les fruits, les fourrages ainsi que les aliments manufacturés et composés issus de ces filières destinés à l'alimentation humaine et animale. Les produits d'origine animale tels que le lait, les œufs, la viande ou les abats peuvent être également contaminés au travers de l'alimentation animale. Les mycotoxines sont généralement thermostables et ne sont pas détruites par les procédés habituels de cuisson et de stérilisation.

Les groupes de mycotoxines considérés comme importants du point de vue agro-alimentaire et sanitaire sont les aflatoxines, l'ochratoxine A, les trichothécènes et tout spécialement le déoxynivalénol, les fumonisines, la zéaralénone et la patuline. D'autres mycotoxines, moins étudiées quant à leurs effets toxiques mais susceptibles d'avoir des effets sanitaires chez l'homme et/ou l'animal ont été également prises en compte dans cette étude.

D'une façon générale, les mycotoxines traitées dans ce document sont des contaminants alimentaires et présentent un danger pour la santé humaine et/ou animale. La caractérisation du danger est fondée sur des données toxicologiques la plupart du temps incomplètes. Les données de contamination sont souvent très disparates en raison des difficultés d'échantillonnage, compte tenu du caractère hétérogène du développement très variable des moisissures toxigènes et des difficultés de dosage.

La caractérisation du risque doit être affinée à l'aide de nouvelles données sur les effets toxiques obtenues à partir d'études réalisées selon des lignes directrices reconnues internationalement et sur les niveaux de contamination recueillis dans le cadre de plans de surveillance et de contrôle conduits sur plusieurs années, considérant les deux modes de production -biologique et conventionnel-, et mettant en jeu des méthodes de dosage validées.

Même si certaines mycotoxines ont été mieux étudiées que d'autres du point de vue de leurs propriétés toxicologiques et de leurs effets sur la santé humaine et animale et que l'exposition moyenne du consommateur est généralement faible, en raison notamment des mesures de gestion prises pour limiter la contamination des aliments, il convient d'émettre un certain nombre de recommandations pour améliorer la connaissance et la maîtrise des risques liés à la présence de ces mycotoxines dans les aliments pour l'homme et l'animal. Il est à noter que les données toxicologiques disponibles concernent principalement les toxines prises individuellement et non les effets résultant de l'association de mycotoxines alors qu'elles peuvent être présentes simultanément sur la même denrée ou dans une même ration.

Les mycotoxines sont souvent distribuées d'une manière très hétérogène dans les produits végétaux. La qualité de l'échantillonnage a une influence primordiale sur le résultat analytique. L'Afssa recommande d'établir des plans d'échantillonnage validés qui débouchent sur un échantillon final aussi représentatif que possible de la salubrité globale d'une denrée.

La suite de cet avis reprend les conclusions et recommandations par mycotoxine ou groupe de mycotoxines.

Les aflatoxines

Le groupe des aflatoxines et son représentant principal l'aflatoxine B₁ (tant en termes de teneur et de fréquence dans les aliments à risque que d'impact toxique) est le groupe de mycotoxines le mieux étudié et le plus réglementé. Dans de nombreuses régions du monde, on peut les retrouver principalement dans les arachides, les fruits secs, les graines oléagineuses ou les épices, mais également dans les céréales. De plus, il a été mis en évidence que l'aflatoxine B₁ était retrouvée dans le lait sous la forme de son métabolite M₁.

C'est le seul groupe de mycotoxines identifié comme cancérigène avéré chez l'homme. Les instances européennes et internationales n'ont pas fixé de dose journalière tolérable (DJT) pour les aflatoxines. Ces substances présentant des effets cancérigènes génotoxiques sans seuil, 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).

Selon les espèces, les animaux sont plus ou moins sensibles aux effets toxiques des aflatoxines. L'exposition prolongée à de faibles doses d'aflatoxines présentes dans les aliments pour animaux (tourteaux et graines de maïs, coton, arachides, ainsi que les ensilages de maïs pour les ruminants) peuvent induire des altérations hépatiques jusqu'à des tumeurs du foie. Le transfert de l'aflatoxine B₁ dans les œufs et la viande de volailles a été décrit chez des animaux exposés à des teneurs élevées dans leur alimentation. Enfin, 1 à 6 % de la quantité d'aflatoxine B₁ absorbée par une vache laitière sont excrétés dans le lait sous forme d'AFM₁.

Les conditions climatiques en Europe étaient habituellement considérées comme ne permettant pas le développement de contaminations des aliments par les aflatoxines. Les alertes lors de l'été 2003 en Italie suggèrent un risque émergent de contamination dans les pays du sud de l'Europe.

Les mesures réglementaires en vigueur dans l'Union européenne concernent les denrées alimentaires et l'alimentation animale. Les actions de surveillance et de contrôle permettent de maintenir le risque à un niveau très faible.

L'Afssa recommande :

- au plan scientifique : la réalisation d'études de métabolisme et de transfert dans les œufs et la viande chez les volailles, ainsi que dans le lait chez les petits ruminants, exposés à de faibles teneurs en aflatoxines. En outre, des études complémentaires viseront à confirmer le taux de transfert dans le lait chez les vaches fortes productrices, établi jusqu'ici à partir d'une seule étude ;
- au plan réglementaire : la conduite des plans de contrôle visant à vérifier l'application des mesures législatives prises au sein de l'Union européenne est à maintenir. Un plan de contrôle orienté répété pendant plusieurs années successives sur les productions de maïs dans les régions françaises les plus chaudes permettra de mesurer les teneurs en aflatoxines en fonction des conditions climatiques ;
- au niveau préventif : les mesures réglementaires peuvent être contraignantes pour certains acteurs professionnels, notamment pour ceux des pays qui abritent une grande part des zones à « risque-aflatoxines ». De ce fait, ces mesures devraient être accompagnées de guides de bonnes pratiques à appliquer à la production et à la transformation. Ce type d'initiative qui est actuellement mis en place par certaines instances internationales en charge de la gestion des risques alimentaires, doit donc être encouragé.

L'ochratoxine A

L'OTA est une mycotoxine produite lors du stockage de nombreuses denrées alimentaires (céréales, café, cacao, fruits secs, épices, ...) et au champ de façon occasionnelle sur le raisin. Elle est également susceptible d'être présente dans les abats d'animaux (notamment le sang et les rognons) ayant consommé des aliments contaminés.

Des effets néphrotoxiques ont été clairement identifiés chez l'animal et suspectés chez l'homme. En 2006, la DHT a été réévaluée à 120 ng/kg p.c./semaine par l'AESA. Cette évaluation se fonde notamment sur la démonstration de l'absence de génotoxicité directe de l'OTA.

L'Afssa recommande :

- au plan scientifique : on ne connaît toujours pas l'origine et la signification toxicologique de la présence d'OTA à faible dose dans le sang humain et dans le lait maternel sans que l'on puisse établir une relation avec l'exposition alimentaire. Des études épidémiologiques, nécessaires pour éclairer cet aspect et mieux estimer le risque pour l'homme, sont recommandées ;
- au plan analytique : en raison du nombre important de données de contamination par l'OTA des denrées alimentaires inférieures à la limite de détection et de la méthode de calcul, l'exposition est vraisemblablement surestimée. Des techniques analytiques plus sensibles sont à développer de façon à affiner les estimations d'exposition pour mieux caractériser le risque pour le consommateur ;

- au plan de la connaissance des niveaux de contamination : dans le cadre des plans de surveillance et de contrôle, les farines de seigle et de sarrasin apparaissent les plus contaminées ; aussi conviendrait-il de renforcer les dosages d'OTA dans ces produits.

Les trichothécènes

Les trichothécènes sont des mycotoxines produites par de nombreuses espèces de *Fusarium*. Plus de 160 trichothécènes ont été identifiés, classés en 4 groupes selon leur structure chimique. Les principales sont les toxines T-2 et HT-2 (groupe A), le nivalénol (NIV) et le déoxynivalénol (DON) (groupe B), cette dernière mycotoxine étant la plus fréquente et la plus abondante. Les trichothécènes contaminant l'alimentation de l'homme et des animaux sont principalement retrouvés dans les céréales et produits dérivés. L'exposition humaine via la consommation de produits animaux provenant d'élevages exposés est faible.

Les trichothécènes du groupe A pourraient induire, lors d'intoxication chronique, des modifications de la formule sanguine et de la fonction immunitaire. Il convient de s'interroger sur les effets d'une exposition à de faibles doses de ces mycotoxines. Les trichothécènes du groupe B provoquent principalement chez le porc des baisses de consommation alimentaire avec pour conséquence une réduction des performances zootechniques.

L'Afssa recommande :

- au plan scientifique : afin de conforter les doses journalières tolérables fixées en 2001 et 2002, il est recommandé que des études toxicologiques soient réalisées selon les lignes directrices reconnues internationalement. Elles devraient permettre également d'établir le différentiel toxique entre les différents trichothécènes. Enfin, des études devraient être conduites pour améliorer les connaissances toxicologiques des associations de toxines fusariennes, notamment des trichothécènes du groupe B, avec la zéaralène ;
- au plan analytique : la Commission européenne a fixé des limites maximales en DON dans les matières premières et les denrées destinées à l'alimentation humaine. Le développement de méthodes de multi-détection rapides et compatibles avec les limites réglementaires, qui puissent être utilisées dans les auto-contrôles, est recommandé ;
- au plan de la connaissance des niveaux de contamination et de l'exposition: dans le cadre des plans de surveillance et de contrôle, il conviendrait de rechercher les teneurs en toxines T-2 et HT-2 dans les produits céréaliers avec des limites analytiques permettant l'estimation de l'exposition.

La Zéaralène

La zéaralène est produite par plusieurs espèces de *Fusarium* qui se développent sur les céréales au champ mais également au cours du stockage et du maltage (orge). Les semoules et farines de maïs sont les aliments les plus fréquemment contaminés.

L'effet toxique le plus préoccupant de la zéaralène est son caractère de perturbateur endocrinien à activité oestrogénique. L'effet sur l'homme n'est pas avéré. En revanche, le porc est sensible à la zéaralène, plus particulièrement les jeunes femelles. La zéaralène subit une bioactivation en α -zéaralène, dont l'activité oestrogénique est supérieure à celle du composé parental.

La DJTP de 0,2 $\mu\text{g}/\text{kg p.c./j}$ fixée par le SCF en 2000 a été retenue pour la caractérisation du risque du consommateur. L'exposition alimentaire humaine est inférieure à la dose journalière tolérable sauf pour la population des végétaliens/macrobiotes qui dépasse cette valeur toxicologique de référence de 185 %. Les animaux d'élevage peuvent être exposés à la zéaralène contaminant les céréales et co-produits céréaliers à des teneurs élevées capables d'induire un risque d'apparition d'effets oestrogéniques, notamment chez le porc.

L'Afssa recommande :

- au plan scientifique :
 - de réaliser des études toxicologiques selon les lignes directrices reconnues internationalement afin de réviser les doses journalières tolérables fixées en 1999 par le JECFA et en 2000 par le SCF à partir d'études considérées aujourd'hui comme insuffisantes,
 - d'étudier les interactions de la zéaralène avec les autres perturbateurs endocriniens,
 - de conduire des études qui permettent d'améliorer les connaissances toxicologiques des associations de toxines fusariennes, notamment de la zéaralène avec des trichothécènes,
 - de réaliser des études complémentaires sur la présence de la zéaralène et de ses métabolites, notamment l' α -zéaralène, dans les produits animaux, afin d'évaluer le transfert dans les denrées d'origine animale ;
- au plan de la surveillance de la contamination : les plans devront être confortés par la prise en compte des produits céréaliers à base de blé destinés à l'alimentation humaine et animale.

Les fumonisines

Les fumonisines B₁, B₂, B₃ et B₄, produites par différentes espèces de *Fusarium*, constituent un groupe de mycotoxines structurellement reliées. La contamination du maïs par les fumonisines, notamment dans les cultures du sud de l'Europe, apparaît variable selon les années en fonction des conditions météorologiques.

Parmi les différentes fumonisines, les effets de la fumonisine B₁ sont les mieux caractérisés : elle entraîne notamment une altération du métabolisme des sphingolipides dont toutes les conséquences toxicologiques ne sont pas connues. La connaissance de la toxicité des autres fumonisines est très limitée et le différentiel toxique entre fumonisines n'est pas connu.

L'Afssa recommande :

- au plan scientifique : d'engager des études pour mieux caractériser le danger des fumonisines, notamment les effets immunotoxiques et cancérogènes ;
- au plan de la surveillance de la contamination : la population française est peu exposée aux fumonisines en raison de la faible consommation de maïs et du faible transfert de ces toxines dans les produits animaux. Cependant, les teneurs mesurées dans le cadre des plans de surveillance et de contrôle dans les produits à base de céréales destinés aux enfants en bas-âge montrent qu'il conviendrait de renforcer les contrôles sur ces produits ;
- sur le plan réglementaire : la population animale est plus exposée puisque le maïs peut constituer un élément majeur de son alimentation. En termes de santé animale, la leucoencéphalomalacie équine est la principale pathologie observée. Les issues de maïs utilisées dans l'alimentation des animaux, notamment celle des équidés, présentent donc un risque particulier. D'une façon générale, les teneurs maximales recommandées par la Commission apparaissent trop laxistes au regard de la protection de la santé animale mais aussi des niveaux observés dans les matières premières.

La patuline

La patuline est un contaminant naturel des fruits, notamment de la pomme. Elle peut également être présente dans les ensilages destinés à l'alimentation des ruminants. L'exposition alimentaire à la patuline est très inférieure la dose journalière maximale tolérable provisoire quelles que soient les catégories de population.

La patuline fait l'objet d'une réglementation pour de nombreux aliments et notamment pour les jus de fruits et compotes destinés aux enfants qui peut paraître protectrice pour le consommateur au regard des niveaux d'exposition observés.

L'Afssa recommande :

- au plan scientifique :
 - les études toxicologiques disponibles sont peu nombreuses et relativement anciennes. Des incertitudes demeurent quant au devenir de cette mycotoxine dont le suivi analytique est difficile dans les matrices biologiques. Des études de toxicologie réalisées selon les lignes directrices reconnues internationalement sont nécessaires,
 - en 2004, une étude chez le rat exposé à la patuline rapporte des perturbations des hormones stéroïdes circulantes corrélées à des atteintes testiculaire et thyroïdienne. Cette information mériterait d'être confirmée par des études complémentaires en raison du souci actuel des toxicologues à reconnaître le caractère perturbateur endocrinien de tout contaminant alimentaire ;
- au plan de la surveillance de la contamination des aliments pour animaux : l'exposition alimentaire des animaux d'élevage est vraisemblable chez les ruminants par la consommation des ensilages ou des écarts de tri de pommes. Toutefois, le danger réel chez l'animal demeure mal évalué, compte tenu de la méconnaissance de la toxicité et du devenir de cette toxine. Il serait souhaitable de mettre en place un plan de surveillance sur les aliments conservés par voie acide (ensilages de fourrages ou de grains, fourrages enrubannés) susceptible de favoriser le développement de champignons toxigènes ;
- au plan analytique : des techniques de dosage permettant de suivre le devenir de la patuline dans les matrices biologiques d'origine animale devraient être mises au point.

Autres mycotoxines pouvant être retrouvées en l'alimentation humaine ou animale

Claviceps purpurea

Les toxines de *Claviceps purpurea* ne semblent plus constituer un risque sanitaire majeur pour la santé de l'homme dans des conditions actuelles d'alimentation. Chez l'animal, même si le transfert des alcaloïdes dans les produits animaux est mal connu, la législation mise en place au niveau européen semble garantir l'intégrité de la santé en élevage et l'innocuité des produits d'origine animale.

L'Afssa recommande :

- au plan de la contamination : de surveiller le niveau de contamination des céréales en liaison avec l'évolution des techniques culturales et des variétés cultivées ainsi que dans les céréales importées (seigle) ;
- au plan analytique : de disposer de méthodes de dosage des principales toxines de *Claviceps*.

La citrinine

Il est peu probable que la citrinine présente un risque pour l'homme. Le risque d'intoxication provient surtout de la consommation de céréales contaminées utilisées à l'état brut en alimentation animale, et particulièrement dans l'alimentation des porcs et des volailles.

Les toxines d'Alternaria

Si une attention doit être maintenue sur la qualification des propriétés toxiques de ces toxines, et sur leur occurrence, les données de contamination restant peu nombreuses, il n'existe pas actuellement de raison objective de considérer leur danger comme une priorité en sécurité sanitaire des aliments destinés à l'homme ou aux animaux d'élevage.

L'acide cyclopiazonique

Il est peu probable que l'acide cyclopiazonique présente un risque sanitaire majeur pour l'homme. Le risque d'exposition provient principalement de la consommation de céréales contaminées. En Amérique du Nord, la présence de ce co-contaminant de l'aflatoxine B₁ est considérée sans conséquence néfaste car il est supposé atténuer le danger des aflatoxines en participant à leur inhibition métabolique.

Les toxines trémorgènes

La forte toxicité avérée chez l'animal du verrucologène et du penitrem conduit à s'interroger sur leur occurrence en alimentation animale et donc sur le risque qu'ils représentent. Et par transposition, la même interrogation se pose les concernant sur l'appréciation du risque en alimentation humaine.

Autres mycotoxines principalement retrouvées en l'alimentation animale

Les sporidesmines

La présence de sporidesmines constitue un réel problème sanitaire pour certaines productions animales, notamment chez les ovins. Le risque sanitaire pour l'homme est peu connu et peu d'informations sont disponibles sur le passage dans les produits animaux. Il serait donc important de connaître le devenir des sporidesmines chez l'animal et de mettre en place des recherches sur le transfert dans le lait.

Les stachybotryotoxines

Les stachybotryotoxicoses sont des affections des équidés dont la prévalence est difficile à évaluer. Si ces affections chez l'homme sont bien connues lors d'exposition par inhalation ou contact, il y a peu de préoccupations à avoir en terme d'exposition humaine par voie alimentaire.

Les toxines d'endophytes

Le risque d'intoxication provient de la consommation de fourrages verts contaminés par les ruminants, particulièrement les bovins. Ces toxines peuvent être responsables de pertes de productivité pour les animaux atteints. Il est peu probable que les toxines d'endophytes présentent un risque pour l'homme.

Les phomopsines

Le risque d'intoxication provient surtout de la consommation de graines de lupin contaminées utilisées en alimentation animale. Aucun cas n'a été rapporté en France mais la vigilance doit être maintenue en raison de la part croissante des graines importées. Il est peu probable que les phomopsines présentent un risque pour l'homme. Toutefois, en raison du profil toxicologique de ces toxines, il conviendrait de réaliser des études de transfert dans les productions animales.

Création et mise en page : Parimage
Impression : Bialec, Nancy (France)
N° - mars 2007
2 000 exemplaires

Photos de couverture : Afssa, Jean-Marc Frémy

27-31, avenue du Général Leclerc
94701 MAISONS-ALFORT cedex
www.afssa.fr

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE