

Mycotoxines dans les céréales

Évaluation des risques

par **Jean-Marc FREMY**

Direction de l'Évaluation des risques nutritionnels et sanitaires, Unité d'évaluation
des risques physico-chimiques
Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA)

1. Démarche de l'évaluation des risques. Cas des mycotoxines et des céréales	F 1 137 - 2
2. Mycotoxines d'intérêt pour les filières céréalières	— 3
2.1 Aflatoxines	— 3
2.2 Ochratoxine A.....	— 4
2.3 Trichothécènes	— 6
2.4 Zéaralénone.....	— 8
2.5 Fumonisines	— 9
2.6 Toxines de Claviceps, reliées à la maladie dite « de l'ergot »	— 11
2.7 Perspectives d'évolution des risques	— 12
3. Conclusions	— 12
Pour en savoir plus	Doc. F 1 137

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) a pour mission l'évaluation des risques et, ainsi, de se prononcer dans ses avis sur le niveau de risques pour le consommateur et d'effectuer des recommandations aux gestionnaires des risques (ministères de tutelles).

Concernant la problématique des mycotoxines, le Conseil supérieur d'hygiène publique de France (CSHPP) avait rédigé un rapport, en 1998, qui faisait le point des connaissances sur certaines d'entre elles. Si, pour certaines de ces mycotoxines, les propriétés toxicologiques commençaient à être bien connues à cette époque, pour d'autres, leur impact toxicologique était encore mal identifié. De plus, certaines d'entre elles, les trichothécènes, n'avaient pas été traitées dans ce rapport.

Pour ces raisons notamment, l'AFSSA, créée depuis lors, s'est saisie de l'évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans la chaîne alimentaire humaine et animale. Un groupe de travail (dont les noms figurent en fin de dossier pour un remerciement nominatif) a été chargé de cette tâche, 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 [1] a présenté, pour chaque mycotoxine, les facteurs favorisant :

- leur développement ;
- leurs propriétés toxicologiques ;
- les méthodes d'analyse ;
- leurs effets sur la santé humaine et animale ;
- le transfert dans les produits animaux ;
- les données de contamination des denrées humaines et animales disponibles ;
- l'exposition de l'homme au travers des denrées végétales, animales et des produits finis.

Le présent article s'appuie sur les données tirées du rapport de l'AFSSA cité et, donc, focalisées sur l'évaluation des risques liés à la présence des mycotoxines dans les céréales destinées à l'alimentation humaine. Un autre article, traitant cette fois de la gestion des risques et, précisément, de la réglementation, des plans de contrôle, et des mesures préventives couvrant notamment les pratiques agricoles, sera publié ultérieurement par MM. Grosjean et Gourdain [F 1 138]. Enfin, cet article ne traite pas des méthodes de détection et de dosage (consulter le [P 3 330] dans le **Pour en savoir plus**).

1. Démarche de l'évaluation des risques. Cas des mycotoxines et des céréales

L'évaluation des risques se réalise par étapes, faites de points-clés, notamment sur l'identification et la caractérisation de danger, sur les données d'exposition de population – croisant les données de contamination des aliments spécifiques des régimes alimentaires des groupes de population pour, enfin, estimer les risques.

Les mycotoxines sont des produits du métabolisme secondaire des moisissures. 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 A_w supérieure à 0,6), d'où la grande variété des substrats alimentaires contaminés.

■ Ces denrées contaminées par les mycotoxines peuvent être classées en **deux grands groupes** :

- les aliments et produits d'origine végétale ;
- par transfert spécifique à certaines mycotoxines, ceux d'origine animale, lorsque des métabolites élaborés par les animaux, ayant consommé des aliments contaminés, sont retrouvés dans certaines de leurs productions, telles le lait ou les abats.

■ Identification et caractérisation du danger sont fondées sur des **données toxicologiques**. La toxicité de ces contaminants naturels peut être aiguë ou chronique 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 demeure exceptionnel, en Europe, d'être exposées à des doses toxiques en une seule ingestion d'aliments contaminés, provoquant ainsi une « mycotoxicose » aiguë.

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

Ainsi, parmi plus de 300 de ces métabolites secondaires identifiés, seule une trentaine possède des propriétés préoccupantes pour la santé du consommateur (cf. [P 3 330] *Pour en savoir plus*).

■ Parmi les produits et aliments d'origine végétale, les céréales, les oléagineux et leurs produits dérivés présentent un **vecteur de risque**, compte tenu de l'éventuelle occurrence de contamination et de leur consommation importante en Europe, quel que soit le régime alimentaire.

- En se plaçant donc des points de vue agroalimentaire et sanitaire, on distingue, parmi les groupes de mycotoxines considérées comme importantes, celles d'intérêt pour les aliments de la filière céréales/oléagineux destinés à la consommation humaine :

- les aflatoxines ;
- les ochratoxines et l'ochratoxine A, en particulier ;
- les trichothécènes et, tout spécialement, le déoxynivalénol ;
- les fumonisines ;
- la zéaralène.

- Par ailleurs, d'autres groupes de mycotoxines suscitent de leur porter un certain intérêt tels les alcaloïdes de l'ergot.

C'est selon cette liste que seront déroulées, dans ce document, les données se référant à l'évaluation des risques dans les produits céréaliers. Même si les données sur les aflatoxines – restant les mycotoxines « majeures » en termes sanitaire – sont exposées en premier, un traitement des données concernant les autres toxines, notamment celles produites par le genre *Fusarium* (trichothécènes, fumonisines et zéaralène), sera effectué lui en détail, étant donné leur importance dans la filière céréale des pays de la zone tempérée, donc pour la France.

Le tableau 1 liste les mycotoxines d'intérêt pour la filière céréale et les espèces des moisissures productrices associées.

■ **Deux groupes de moisissures toxigènes** (producteurs de mycotoxines) peuvent être distingués.

- **Le premier** est constitué de moisissures envahissant leur substrat et produisant la mycotoxine sur les céréales au niveau du champ : 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 moisissures 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.

Remarque

Une même moisissure peut produire différentes mycotoxines. À l'inverse, une même mycotoxine pourra être produite par plusieurs espèces et genres de moisissures.

Ainsi, 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. **On parle alors de multicontamination.**

Cette situation naturelle pose des interrogations sur les interactions toxiques qui peuvent s'opérer et pourrait ainsi se traduire par un effet antagoniste, ou encore additif ou synergique. Cet aspect toxicologique ne sera pas développé, car trop peu documenté.

■ Un accent particulier sera donné aux connaissances sur les **facteurs favorisant la synthèse des mycotoxines et leur devenir**,

Tableau 1 – Mycotoxines et moisissures productrices associées pour les filières céréalières

Mycotoxines	Principales moisissures productrices
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>
Fumonisines B1, B2, B3	<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i>
Trichothécènes des groupes A et B	<i>Fusarium langsethiae</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. crookwellense</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>

respectivement lors de la production et de certains procédés de transformation des céréales.

Il est à noter que les mycotoxines sont généralement thermostables et ne sont pas détruites par les procédés habituels de cuisson et de stérilisation.

On peut aussi classer les mycotoxines selon leurs principaux effets toxiques :

- pouvoir hépatotoxique (aflatoxines) ;
- œstrogéniques (zéaralène) ;
- immuno/hématotoxiques (trichothécènes) ;
- fumonisines ;
- dermonécrosantes (trichothécènes) ;
- néphrotoxiques (ochratoxine A).

Certaines mycotoxines sont reconnues ou suspectées d'être cancérogènes (tableau 2).

2. Mycotoxines d'intérêt pour les filières céréalières

2.1 Aflatoxines

L'investigation menée lors de la « maladie X du dindon », qui a sévi en 1960 en Angleterre, a permis de mettre en évidence la présence d'une toxine dans la nourriture de ces volailles, comportant des tourteaux d'arachide. Des études conduites sur la matière première contaminée par une moisissure, du genre *Aspergillus*, aboutirent à la caractérisation des aflatoxines [2]. Ces travaux furent à l'origine de la découverte des toxines de moisissures ou mycotoxines.

■ Facteurs de développement fongique et de production d'aflatoxines

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* (rencontré 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 ;
- *A. parasiticus* est présent, surtout, dans les graines d'arachide [3].

Les conditions les plus favorables pour un développement d'*A. flavus* et une production d'aflatoxines sont une activité en eau (A_w) de 0,84-0,86 et une température comprise entre 25 et 40°C [4]. 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 augmente le risque de contamination de la partie comestible. Un tel scénario ne concerne pas seulement les zones tropicales et les cultures d'arachide, mais aussi les zones tempérées et certaines cultures comme le maïs, lors de saisons particulièrement chaudes et sèches.

Tableau 2 – Effets des mycotoxines d'intérêt pour les céréales et mécanismes d'action cellulaires et moléculaires identifiés

Toxines	Effets	Mécanismes d'actions
Aflatoxine B1 + M1	<ul style="list-style-type: none"> • Hépatotoxicité • Génotoxicité • Cancérogénicité • Immunomodulation 	<ul style="list-style-type: none"> • Formation d'adduit à l'ADN • Peroxydation lipidique • Bioactivation par des cytochromes P450 • Conjugaison aux glutathion-transférases
Ochratoxine A	<ul style="list-style-type: none"> • Néphrotoxicité • Génotoxicité • Immunomodulation 	<ul style="list-style-type: none"> • Impact sur la synthèse des protéines • Inhibition de la production d'ATP • Détoxification par les peptidases
Trichothécènes (groupes A et B)	<ul style="list-style-type: none"> • Hématotoxicité • Immunomodulation • Toxicité cutanée 	<ul style="list-style-type: none"> • Induction de l'apoptose sur progéniteur hématopoïétique et cellules immunitaires • Impact sur la synthèse des protéines • Altération des immunoglobulines
Zéaralène	<ul style="list-style-type: none"> • Fertilité et reproduction 	<ul style="list-style-type: none"> • Liaison aux récepteurs œstrogéniques • Bioactivation par des déshydrogénases • Conjugaison aux glucuronyltransférases
Fumonisine B1	<ul style="list-style-type: none"> • Lésion du système nerveux central • Hépatotoxicité • Génotoxicité • Immunomodulation 	<ul style="list-style-type: none"> • Inhibition de la synthèse de céramide • Altération du rapport sphinganine/sphingosine • Altération du cycle cellulaire

Exemple : un maïs récolté en 2003 (été caniculaire), dans un pays d'Europe méridionale, a présenté une contamination par l'AFB1, inhabituelle sous cette latitude [5].

Un tel cas (même céréale et pays) s'est reproduit en 2005.

Une enquête réalisée aux États-Unis, en 1988, qui était également une année chaude et sèche, inhabituelle dans la zone septentrionale (sept états du Middle West), a montré que 8 % des maïs récoltés dans cette zone contenaient des aflatoxines [6].

■ Impact des procédés technologiques sur la teneur en aflatoxines

Les aflatoxines sont peu sensibles à la plupart des traitements thermiques (stérilisation, pasteurisation, congélation), ou de séchage (déshydratation, lyophilisation), à l'exception de la torréfaction.

- **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. Seules des études appropriées et spécifiques à chaque traitement de transformation permettent de connaître le taux de dilution, ou de concentration, au niveau du produit transformé par rapport à la teneur initiale en aflatoxines.

Quelques cas de variation de la teneur en aflatoxines, au cours de certains procédés technologiques, sont cités ci-après.

- **Les procédés de transformation du maïs modifient la teneur initiale en AFB1 selon deux voies :**

- avec la voie humide (amidonnerie), le gluten, le germe et l'amidon contiennent ainsi, respectivement, 13 à 17 %, 6 à 10 % et 1 % de la teneur initiale des grains [7] ;

- avec la voie sèche (semoulerie) les teneurs les plus hautes sont retrouvées dans le germe et le son et la plus basse dans la farine [8].

- **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 à 27 % de la teneur initiale ([9] [10]).

■ Valeur toxicologique de référence

L'aflatoxine B1 est reconnue comme étant l'un des plus puissants cancérigènes d'origine naturelle. L'organe cible est le foie. De nombreuses études, menées pendant les années 1970 et 1980 avaient montré le caractère hautement cancérigène hépatique de l'AFB1 [11].

L'AFB1 possède le plus fort potentiel cancérigène de toutes les aflatoxines.

Les différences dans la biotransformation d'AFB1 sont un critère déterminant dans la variabilité des réponses entre les espèces animales à l'effet carcinogène de l'AFB1 :

- de 10 à 30 µg/kg d'aliment pour les poissons et les oiseaux ;

- de 15 à 150 000 µg/kg d'aliment pour les mammifères [12], pouvant s'expliquer par des différences dans l'équipement enzymatique du foie.

- La plupart des études épidémiologiques tendent à montrer l'existence d'une corrélation entre une exposition chronique à l'aflatoxine via le régime alimentaire et une prévalence du cancer primitif du foie.

Le CIRC/IARC, lors de son évaluation en 1993, conclut qu'il y a « une suffisante évidence de la cancérigénicité de l'AFB1 », « une suffisante évidence de la cancérigénicité en expérimentation animale et une inadéquate évidence de la cancérigénicité chez l'homme de l'AFM1 », « une suffisante évidence de la cancéro-

généicité en expérimentation animale de l'AFG1 », « une évidence limitée de la cancérigénicité en expérimentation animale de l'AFB2 », et « une inadéquate évidence de la cancérigénicité de l'AFG2 ».

- Néanmoins, cette relation « exposition chronique à l'aflatoxine et prévalence du cancer primitif du foie » est modulée par d'autres facteurs qui influencent ce risque de cancer, notamment l'infection virale à l'hépatite B (HBV). La majorité des études épidémiologiques étayant la relation aflatoxine – cancer du foie, proviennent d'Asie du Sud-Est, de Chine, d'Afrique occidentale et équatoriale, régions du globe 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 cancérigénicité hépatique reliée à l'AFB1 est substantiellement plus élevée chez les porteurs de virus de l'HBV (0,3 cas par an/100 000 individus par ng d'AFB1/kg de p.c. et par jour) que chez les non-porteurs (0,01 cas par an/100 000 individus par ng d'AFB1/kg de p.c. et par jour) en se basant sur le dosage de l'antigène de surface du virus dans le sang (HBsAg) soit :

- HBsAg– pour les non-porteurs ;
- HBsAg+ pour les porteurs du virus.

Exemple

Le JECFA, considère 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 un indice composite, calculé à partir de 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 du consommateur

Une étude de la ration alimentaire totale [13] a été entreprise en 2000, afin de connaître le niveau de consommation et d'exposition de la population française générale et végétarienne, aux aflatoxines à partir d'aliments « prêt à consommer » [14].

Les résultats montrent qu'aucun échantillon, sur les 78 analysés en aflatoxines B1, B2, G1 et G2, ainsi qu'aucun des 70 analysés pour la recherche d'aflatoxine M1 n'a été retrouvé à un niveau supérieur aux limites de détection, et donc à celui des limites réglementaires communautaires.

Le tableau 3 récapitule les apports moyens et au 95^e percentile de consommation pour différents types de populations françaises.

À titre de comparaison, la tâche européenne SCOOP européenne 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.

2.2 Ochratoxine A

■ Facteurs de développement fongique et de production de l'ochratoxine

D'abord décrite comme métabolite d'*Aspergillus ochraceus* [15] d'où sa dénomination, il a été montré depuis que l'ochratoxine A (OTA) pouvait être produite par des souches de *Penicillium verrucosum* (anciennement nommé *P. viridicatum* [16] [17] [18]).

Aspergillus ochraceus est décrit comme étant mésophile xérotolérant. Sa croissance est observée entre 8 et 37 °C, avec un optimum entre 24 et 31 °C. Les conditions d'humidité les plus favorables sont toutefois de l'ordre d'une A_w de 0,85 à 0,95.

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 (d'après [13])

Type de population		Apport moyen (ng/kg p.c./j)	Apport au P95 (ng/kg p.c./j)	Individus pouvant dépasser la « valeur toxicologique » (1) (%)	Apport moyen (ng/kg p.c./j)	Apport au P95 (ng/kg p.c./j)	Individus pouvant dépasser la « limite maximale » (1) (%)
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	0

(1) limite maximale estimée par le JECFA à 1 ng/kg p.c./j.

Penicillium verrucosum croît lentement pour une faible activité en eau (A_w inférieur à 0,80) et à basse température, entre 0 et 31 °C, avec un optimum à 20 °C, ce qui explique une distribution confinée aux zones géographiques tempérées ou froides. Les supports potentiels de développement de *P. verrucosum* sont les céréales en Europe centrale, du Nord, et au Canada. Cette moisissure est pratiquement inconnue dans les régions chaudes. La contamination est plus importante dans les pays d'Europe centrale, comme la Bulgarie [19].

Bien que les infections fongiques puissent avoir lieu avant et après récolte, la synthèse de l'ochratoxine A se fait surtout lors du stockage des céréales (maïs, orge, blé, sorgho, avoine et riz).

■ Impact des procédés technologiques sur la teneur en ochratoxine

• Meunerie

La répartition de l'OTA dans les fractions céréalières de meunerie a été peu étudiée et les résultats de la littérature sont contradictoires. Scudamore et Livesey et ITCF rapportent des teneurs dans les sons supérieures à celles de la farine, alors que Chelkowski [20] observent des teneurs semblables. Ce dernier résultat pourrait s'expliquer par une pénétration des *Penicillium* différente dans le grain selon la nature « *soft/hard* » des blés [21].

• Brasserie

Après inoculation préalable de lots d'orge au moyen d'une souche toxigène de *P. verrucosum*, une étude du suivi du procédé de brasserie a été conduite par Baxter [22], à partir de grains naturellement contaminés à deux niveaux : 5,4 µg et 52 µg d'OTA/kg, la première contamination étant proche de la limite réglementaire proposée dans l'UE pour les céréales. La bière, ainsi produite, contenait moins d'OTA que l'orge.

En termes de concentrations, cela équivaut en OTA de 2 % à 4 % de celles du grain respectivement pour 5,4 et 52 µg d'OTA/kg. Ce constat est en accord avec des études plus anciennes menées à partir de grains supplémentés directement (1 à 10 mg/kg) en OTA [9] [23] [24] et pour lesquels 13 à 32 % était restitué dans le produit final.

Il est probable qu'une partie significative de l'OTA soit dégradée durant le brassage sous l'action d'enzymes protéolytiques (la coupure de la liaison peptidique de l'OTA la convertissant en OTα non

toxique) et qu'une autre partie de l'OTA, du fait de sa faible solubilité dans l'eau, reste dans le malt.

Des teneurs résiduelles d'OTA ont été trouvées dans les issues d'orge maltée (drèches), les rendant impropres à leur utilisation en alimentation animale [22].

■ Valeur toxicologique de référence

L'OTA a été classée dans le groupe 2B (peut-être cancérigène) par le CIRC (1993).

Le Comité scientifique européen de l'alimentation humaine [25], 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 dose journalière tolérable (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, observés 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 conduit à cette valeur.

- L'**Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA)** a revu à la hausse, en 2006, la DHT de l'OTA à 120 ng/kg p.c./sem [26], en se fondant sur les arguments suivants :

- chez l'homme, certaines données épidémiologiques ont suggéré que l'OTA pourrait être impliquée dans la pathogenèse de certaines affections rénales, voire dans l'apparition de tumeurs rénales rares dans certaines régions endémiques de la péninsule balkanique. Ces données épidémiologiques demeurent néanmoins incomplètes et ne justifient, en aucun cas, la classification de l'OTA parmi les agents responsables de cancers rénaux chez l'homme ;

- des données, issues du programme de recherche européen « *OTA Risk assessment* QL1-2001-016114 », montrent que les effets de l'OTA mesurés au cours de diverses études *in vivo* et *in vitro* (toxicité rénale régio-spécifique, lésions de l'ADN et effets génotoxiques) sont très probablement attribuables à un stress oxydatif cellulaire ;

- l'utilisation de méthodologies nouvelles en chimie analytique n'a pas réussi à démontrer que l'OTA provoquait des adduits identifiables à l'ADN.

Tableau 4 – Estimation des apports alimentaires moyens et des forts consommateurs (P95) pour différents types de population en OTA (EAT, 2004)

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

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

Tableau 5 – Exposition alimentaire de la population française à l'ochratoxine A (tâche SCOOP, 2002)

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

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

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

■ Exposition du consommateur

L'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 4 récapitule les apports moyens et au 95^e percentile de consommation pour différents types de population [14].

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. Les données de contamination reliées à la consommation montrent que les forts consommateurs français sont exposés à 3,5 ng/kg p.c./j (20 % de la DJT), pour les adultes, et à 7,8 ng/kg p.c./j (45 % de la DJT), pour les enfants.

À titre de comparaison, la tâche SCOOP européenne, réalisée en 2002 (tableau 5) 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.

Ces études sur l'exposition alimentaire des consommateurs français à l'OTA ont révélé que l'exposition hebdomadaire actuelle est, en fait, comprise entre 15 et 60 ng d'OTA par kg de poids corporel par semaine, ce résultat englobant les forts consommateurs d'aliments contenant de l'OTA. Ce taux d'exposition est inférieur à la DHT de 120 ng/kg de poids corporel obtenue par l'EFSA.

Cependant, il est à souligner que les calculs d'exposition ne prennent pas en compte les nourrissons et, de ce fait, que des données supplémentaires seraient nécessaires afin d'évaluer les taux d'exposition de cette population de consommateurs avec prise en compte de leurs préférences alimentaires.

2.3 Trichothécènes

■ Facteurs favorisant le développement

Les conditions de développement des *Fusarium* sur des céréales et de production de ces mycotoxines sont complexes, et encore incomplètement comprises, d'autant que ce ne sont pas toujours les mêmes qui agissent sur la croissance des champignons et la production de mycotoxines.

Selon les souches de *Fusarium*, le développement fongique est indépendant de la production de fusariotoxines : les unes sont génétiquement incapables de produire des trichothécènes, les autres le sont, mais les produisent en fonction des conditions du milieu, telles que la température ou l'humidité.

• Trichothécènes du groupe A

La toxine T-2 a été isolée pour la première fois en 1968 à partir de *Fusarium tricinctum*, puis a été détectée sur de nombreuses céréales (blé, maïs, avoine, orge, riz, fèves, soja...). Elle est produite par de nombreuses espèces de *Fusarium*, en particulier *Fusarium sporotrichioides* et *Fusarium langsethiae* [27].

La toxine HT-2 est produite par de nombreuses espèces de *Fusarium*, en particulier *Fusarium langsethiae*, *F. tricinctum*, *F. sporotrichioides*, *F. poae*, *F. solani*, *F. equiseti* [27], la plus fréquente étant *F. sporotrichioides*. Cette moisissure se développe entre -2 et +35 °C, dans des milieux à haute activité en eau (très humides).

Le diacétoxyscirpénol (DAS) est produit par différentes souches appartenant aux espèces de *Fusarium* dont les principales sont *F. graminearum* et *F. roseum* [28], mais aussi *Fusarium langsethiae* [27].

• Trichothécènes du groupe B

Le déoxynivalenol (DON) est l'un des trichothécènes les plus répandus dans le monde. Il est principalement produit par *Fusarium graminearum* et par *Fusarium culmorum* qui se développent principalement dans les pays tempérés. La température optimale de développement de *F. graminearum* est légèrement supérieure à celle de *F. culmorum* : 25-27 °C, versus 22-25 °C [29].

Ces moisissures nécessitent des humidités relatives (A_w) élevées, caractéristiques de la phase de production au champ, plus que de celle du stockage.

La fusarénone X est principalement produite par *Fusarium crockwellense* et certaines souches de *Fusarium graminearum*. Mais, elle peut aussi être produite par d'autres *Fusarium* (*F. solani*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*) [30]. On retrouve peu de fusarénone X en Europe, notamment en France.

■ Facteurs liés au développement fongique au champ

Le premier facteur de risque de production de fusariotoxines, notamment de DON dans le blé tendre (*Triticum aestivum*) et les céréales, est la pluie au moment de la floraison, voire dans les semaines qui la suivent. La toxine T-2 se retrouve principalement sur des céréales ayant reçu de la pluie et moissonnées en période froide.

- D'autres facteurs, dits « secondaires », peuvent influencer sur cette production de mycotoxines, modulant l'effet du facteur climatique. Parmi les facteurs secondaires modulant l'effet de la pluie au moment de la floraison, figurent la sensibilité à la fusariose de la variété de blé, ainsi que la relation entre variétés et teneurs en trichothécènes (encore mal connues). La présence dans le sol de reliquats de la récolte précédente contaminés (tiges, feuilles...) et le potentiel de survie des *Fusarium* peuvent être à l'origine de la contamination des cultures de rotation [31]. Le risque de fusariose est plus grand pour un blé cultivé après un maïs que pour un blé succédant à blé [32].

- La qualité du « travail du sol » et la profondeur d'enfouissement des reliquats de la culture précédente influent également sur la survie des *Fusarium* d'une saison à l'autre. La survie est maximale en l'absence de travail du sol, et réduite en cas de labour et, ce, d'autant plus que l'enfouissement est profond [32].

De plus, la rotation des cultures et travail du sol peuvent interagir comme démontré par Obst [31] : la teneur en DON du blé était plus élevée si la culture précédente était un maïs grain et si aucun labour n'avait été effectué. Par contre, le risque, lié à la présence de reliquats contaminés de la récolte précédente, ne se retrouve pas avec une rotation de blé sur blé, du fait de la taille des particules de pailles, d'épilletts et de glumes qui ne favorisent pas la survie fongique.

- Les traitements phytosanitaires peuvent également moduler la teneur en DON du blé, notamment ceux à base de triazoles et de strobilurines dont les effets protecteurs sont variables, voire même contraires : les triazoles réduisent le développement des *Fusarium* et font chuter la teneur en DON, alors que les strobilurines réduisent le développement de *Microdochium nivale* (donnant des symptômes de fusariose, mais sans production de toxines au champ).

Au contraire, la strobilurine favoriserait le développement des *Fusarium* (et donc la production de DON) d'une part, en supprimant leurs compétiteurs [33] et, d'autre part, par un effet de stress sur les *Fusarium* [34].

Enfin, d'autres facteurs sont parfois évoqués, tels que la fertilisation azotée [32], mais les données sont contradictoires.

Les facteurs de variation de la teneur en trichothécènes du maïs sont moins bien connus que ceux du blé et semblent plus complexes, probablement parce que le grain de maïs sur pied conserve longtemps un taux d'humidité élevée (supérieur à 20 %), favorable au développement des *Fusarium* et à la production de mycotoxines. La date de récolte est un facteur de risque spécifique au maïs par rapport aux céréales à paille : plus la récolte est effectuée tardivement et plus la teneur en fusariotoxines peut être élevée [35].

Cependant, ces facteurs de variation de la teneur en trichothécènes au champ semblent identiques à ceux cités précédemment pour le blé tendre (pluie à la floraison, reliquats de culture précédente, résistance variétale). La protection phytosanitaire contre les vrais *Fusarium* est inefficace et, par ailleurs, difficile à mettre en œuvre en raison de la hauteur des tiges. Le maïs n'est pas concerné par le *Microdochium nivale*.

Pour les autres céréales à paille cultivées en France, les facteurs de risque de production des trichothécènes au champ seraient identiques à ceux considérés pour le blé. Pour le sorgho, ces facteurs de risque seraient comparables à ceux décrits pour le maïs. Mais cela reste au stade de suppositions, faute de données suffisantes pour ces deux cas.

■ Facteurs liés au développement fongique au cours du stockage

Lors du stockage, l'humidité des lots de céréales est, en général, trop faible pour conduire au développement des *Fusarium* et à la production de trichothécènes, à l'exception du maïs en cribs, installation propice à la persistance d'une forte humidité.

En ce qui concerne le maïs et le sorgho qui doivent être séchés, la contamination en fusariotoxines dépend aussi des conditions de pré-stockage, comme par exemple la durée d'attente entre la récolte et le séchage.

■ Impact des procédés technologiques sur la teneur en trichothécènes

Les trichothécènes sont remarquablement stables à température ambiante. Ils ne sont pas détruits lors de la cuisson des aliments, ni dans les conditions de stérilisation (environ 15 minutes à 118 °C) [36]. Néanmoins, la cuisson des aliments peut réduire leur teneur en TCT, non pas en raison de la température, mais de la solubilité. La cuisson des pâtes alimentaires diminue de 50 % la teneur en DON. La quantité résiduelle du DON retrouvé dans l'eau de cuisson doit être pris en compte dans le cas de soupe avec du vermicelle [37].

• Meunerie

Des travaux ont été menés sur les différentes fractions de blé contaminé par le DON. Par rapport à une teneur en DON des blés nettoyés de 100 mg/kg, les teneurs relatives en DON des sons, des issues (comprenant les remoulages) et des farines sont respectivement de 103 à 270 mg/kg, de 142 à 225 mg/kg et de 15 à 99 mg/kg. Ces plages de variation peuvent s'expliquer par l'importance, variable selon les essais, de la contamination par les *Fusarium* (pénétration plus ou moins profonde des champignons qui dégradent les tissus du grain) et le caractère « hard » ou « soft » de l'endosperme ([38] [39] [40]).

• Semoulerie

Les procédés sont similaires à ceux de la meunerie, mais peu de travaux ont étudié la répartition des fusariotoxines dans les procédés de semoulerie utilisant le blé dur. Nowicki [41] a observé que la teneur en DON des sons, des issues, de la farine et de la semoule sont respectivement de 151, 137, 111 et 86 % par rapport à celle du blé dur propre. Dexter [42] a indiqué que la teneur en DON de la semoule est moitié moindre que celle des grains avant traitement.

• Amidonnerie

L'amidonnerie de maïs comporte des opérations par voie humide avec une phase de trempage destinée à solubiliser certains composants, suivie du dégermage du grain par broyage grossier, le reste du grain étant séparé en amidon, gluten et drêches. Le gluten, les drêches et les composés solubles du trempage peuvent être mélangés pour être commercialisés en alimentation animale (*corn gluten feed*). Le travail par voie humide joue de façon significative sur la migration des mycotoxines hydrosolubles, comme l'ont montré Lauren et Ringrose [43] et Collins et Rosen [44] qui relèvent des teneurs en DON et en nivalénol dans les concentrés d'eaux de trempage, comprises respectivement entre 270 et 5 000 % et entre 200 et 4 900 % des teneurs observées initialement dans les grains propres.

Dans ces conditions, les teneurs en mycotoxines des fractions non solubles du grain sont plus faibles après le trempage, les glutens sont moins contaminés et l'amidon encore moins.

• Malterie-brasserie

En malterie, les mycotoxines hydrosolubles passent en grande partie dans les eaux de trempage, comme l'ont montré Schwarz [45] pour le DON, et Scott [46] pour la toxine T-2. Lors de la germination, des mycotoxines peuvent être produites. Ainsi, Schwarz ainsi que Boivin [47] ont noté une augmentation de la teneur en DON dans le grain germé. Dans les opérations de brasserie, ils observent que le DON du malt passe dans une très grande proportion dans la bière et, accessoirement, dans les drêches.

■ Valeurs toxicologiques de référence

Le CIRC a classé les différents trichothécènes (T-2, DON...) en 1993 dans le groupe 3, du fait de données insuffisantes pour statuer.

• Trichothécènes du groupe A

Toxine T-2 et toxine HT-2. Bien que peu d'études aient été réalisées sur la toxine HT-2, la dose journalière tolérable fixée par le JECFA et le SCF concernent ces deux toxines. Ces comités ont retenu l'étude sur la T-2 réalisée chez le porc comme étude

pertinente [48]. Les effets toxiques observés aux faibles doses dans cette étude sont des effets immunotoxiques et hématotoxiques. Comme il n'a pas été identifié de dose sans effet dans cette étude, c'est la plus petite dose avec effet (LOAEL) qui a été retenue, soit 0,029 mg/kg p.c./j. Un facteur de sécurité de 500 ($10 \times 10 \times 5$) a été appliqué et la dose journalière tolérable provisoire des toxines T-2 et HT-2 est de 0,06 µg/kg p.c./j.

• Trichothécènes du groupe B

DON. Le JECFA et le SCF ont retenu l'étude de toxicité chronique menée sur la souris [49]. La dose sans effet (NOAEL) est égale à 100 µg/kg p.c./j. 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 (10×10) a été appliqué à la dose sans effet pour obtenir la dose journalière tolérable de DON qui est en conséquence égale à 1 µg/kg p.c. [11].

NIV. Le SCF a fixé une dose journalière tolérable pour le nivalénol à partir des études de toxicité chronique menées chez la souris (2 ans). Les effets toxiques pertinents, identifiés pour déterminer la dose sans effet, sont les effets immunotoxiques et hématotoxiques. Aucune étude n'ayant permis d'identifier une dose sans effet, c'est la plus petite dose avec effet qui a été retenue, soit 0,7 mg/kg p.c./j à laquelle il a été appliqué un facteur de sécurité de 1 000 ($10 \times 10 \times 10$) compte tenu du fait que peu de données sont disponibles sur cette toxine. La dose journalière tolérable provisoire du nivalénol est donc égale à 0,7 µg/kg p.c./j.

■ Exposition humaine aux trichothécènes

• Effets sur la santé humaine (données épidémiologiques)

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 : thrombocytopénie, perturbation de l'hémostase, leucopénie et agranulocytose.

• Exposition de la population française

L'étude de l'alimentation totale (EAT), entreprise en 2000 pour déterminer le niveau d'exposition de la population française aux trichothécènes à partir d'aliments « prêts à consommer », montre que, sur les 238 échantillons analysés, des concentrations supérieures à la limite de détection n'ont été relevées que pour les seules toxines HT-2 et fusarénone X (2 échantillons sur 238), NIV (3 échantillons) et DON (31 échantillons) [14].

Les niveaux d'exposition moyens et des forts consommateurs (95^e percentile) adultes (15 ans et plus) et enfants (de 3 à 14 ans) de la population française générale (tableau 6) et de la population végétarienne (tableau 7) ont été estimés pour le DON et le NIV [14].

Le principal vecteur d'exposition pour les deux groupes de population est représenté par les produits dérivés des céréales (> 90 % pour le DON et environ 80 % pour le NIV), en particulier le pain et les biscottes (entre 45 et 70 % pour le DON et entre 19 et 32 % pour le NIV). Les autres vecteurs contribuent à moins de 2 % (DON) et moins de 4 % (NIV) de l'exposition alimentaire totale.

Les niveaux d'exposition moyens des adultes (15 ans et plus) et enfants (de 3 à 14 ans) de la population française générale estimés pour les DON et NIV lors de l'EAT sont plus faibles d'environ 60 % à ceux estimés par la Tâche SCOOP européenne réalisée en 2003 pour les DON, NIV et T-2 (tableau 8). Pour l'essentiel, la différence est due au fait que les données de contamination proviennent pour l'EAT des denrées, telles que consommées, et pour la Tâche SCOOP des matières premières entrant dans la composition des aliments.

2.4 Zéaralène

■ Facteurs liés au développement fongique et à la production de zéaralène

La zéaralène est produite par les champignons toxigènes, en même temps que d'autres toxines, notamment les trichothécènes, au cours de la maturation des grains de céréales lorsque les conditions climatiques sont mauvaises (exposition des épis aux intempéries) dans les régions tempérées d'Europe, d'Amérique et d'Asie [50].

Tableau 6 – Exposition de la population moyenne et des forts consommateurs (P95) (adultes et enfants) en DON et NIV lors de l'EAT

	DON				NIV			
	Moyenne (µg/kg p.c./j)	P95	DJT* pour P95 (%)	Individus pouvant dépasser la DJT* (%)	Moyenne	P95	DJT pour P95 (%)	Individus pouvant dépasser la DJT* (%)
Adultes (15 ans et +)	0,281	0,571	57	0,4	0,088	0,157	23	0
Enfants (3-14 ans)	0,451	0,929	93	4	0,163	0,300	43	0

* Le JECFA a établi la dose journalière tolérable pour le DON à 1 µg/kg p.c./j et le NIV à 0,7 µg/kg p.c./j.

Tableau 7 – Exposition de la population végétarienne française adultes (15 ans et +) aux DON et NIV lors de l'EAT

	DON				NIV			
	Moyenne (µg/kg p.c./j)	P95	DJT* pour P95 (%)	Individus pouvant dépasser la DJT* (%)	Moyenne	P95	DJT pour P95 (%)	Individus pouvant dépasser la DJT* (%)
Ovolacto végétariens	0,360	0,720	72	4	0,120	0,230	33	0
Lactovégétariens	0,320	0,830	83	5,3	0,120	0,190	27	0
Végétaliens/macrobioles	0,410	0,960	96	3,8	0,210	0,420	60	3,8

* Le JECFA a établi la dose journalière tolérable pour le DON à 1 µg/kg p.c./j et le NIV à 0,7 µg/kg p.c./j.

Tableau 8 – Exposition alimentaire de la population française aux trichothécènes (Tâche Scoop, 2003)

Exposition moyenne (µg/kg p.c./j)	Population	
	Adultes	Enfants 3-14 ans
DON	0,460	0,730
NIV	0,060	0,090
T-2	0,075	0,111

Les conditions de production dans les grains dépendent d'interactions entre la température, l'humidité et l'activité de l'eau (A_w), le substrat et la souche fongique. La production de zéaralénone est très faible à 32 °C et maximale à 20 °C, mais dépend des différences génétiques des souches [51]. Des auteurs ont montré que la production est considérablement augmentée lors de variations successives de températures ([52] [53]), conditions qui peuvent se produire au cours du stockage du maïs en crib.

L'effet de compétition entre *F. graminearum*, *F. verticillioides* et *F. proliferatum*, se traduit sur la croissance de ces colonies de *Fusarium*, mais pas sur la production de zéaralénone [54].

Au champ, dans les conditions de culture observées en France, la zéaralénone se trouve, davantage dans le maïs et le sorgho, que dans les céréales à paille.

La zéaralénone est produite dans le blé sous forme libre mais, également, sous forme du conjugué zéaralénone-4-β-D-glucoside (42 % des échantillons positifs analysés) à des concentrations variant entre 17 et 104 µg/kg pour des teneurs en zéaralénone de 10 à 860 µg/kg [55].

Les métabolites naturels (α et β zéaralénols) sont également présents dans les céréales contaminées ([56] [57]).

■ Impact des procédés technologiques sur la teneur en zéaralénone

• Meunerie

La répartition de la zéaralénone dans les fractions issues de meunerie est semblable à celle du déoxynivalénol (voir partie « trichothécènes »), avec des teneurs dans les sons et les issues de céréales bien supérieures à celles de la farine [58] [59].

• Amidonnerie

La zéaralénone est nettement moins hydrosoluble que le déoxynivalénol et le nivalénol et, de ce fait, se répartit différemment dans les co-produits issus de l'amidonnerie de blé. Lauren et Ringrose [43] ont montré que le gluten est plus fortement contaminé en zéaralénone que le grain (de 200 à 1 200 %). Les germes sont également très contaminés (de 80 à 522 % de la teneur des grains). La teneur en zéaralénone des fractions solubles diverge selon les auteurs : Lauren et Ringrose [43] ne trouvent que peu, ou pas, de zéaralénone dans les eaux de trempage, à la différence de Bennett [7].

• Semoulerie

En semoulerie de maïs, Bennett [7] a noté que la concentration en zéaralénone est la plus élevée dans les germes et atteint 2 à 3 fois celle des grains, notamment dans la matière grasse. Les sons s'avèrent plus contaminés que les grains, mais moins que les germes. Alors que les gritz (semoules) sont peu contaminés.

■ Valeur toxicologique de référence

Le Conseil supérieur d'hygiène publique de France (CSHPF) a proposé, en 1999, une DJT de 0,1 µg/kg/j calculée à partir d'effets œstrogéniques observés sur la reproduction du singe, considérés comme les plus pertinents et caractérisés par une NOAEL de 50 µg/kg/j.

La même année, le comité du JECFA a établi une dose journalière maximale tolérable provisoire (DJMTP) de 0,5 µg/kg p.c./j, calculée à partir de l'étude à court terme (15 jours) chez les truies adultes réalisée par Edwards [60]. Utilisant un facteur de sécurité de 100, le comité a établi la DJMTP à partir de la dose sans effet observé de 40 µg/kg p.c./j. Le comité a aussi considéré la plus faible dose entraînant un effet, 200 µg/kg/j, et la possibilité d'effet du métabolite α-zéaralanol. Le Comité recommandait que la dose journalière de zéaralénone et de ses métabolites n'exécède pas 0,5 µg/kg p.c.

En 2000, le SCF a fixé une dose journalière temporaire (temporary TDI) de 0,2 µg/kg p.c. basée sur la même étude à court terme chez les truies adultes (Edwards [60]). De cette recherche, une NOAEL de 40 µg/kg p.c./j a été établie en considérant les effets hormonaux et en appliquant un facteur de sécurité de 200.

■ Exposition de la population française à la zéaralénone

• Effets sur la santé humaine (données épidémiologiques)

L'aspect de perturbation endocrinienne, constatée chez les porcs notamment (effet œstrogénique), a orienté certaines études épidémiologiques chez l'humain. On dispose, en fait, de peu d'études. La zéaralénone 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 (± 6,48) et 167 (± 17,69) ng/ml. Dans des échantillons d'endomètre, dont la prolifération était normale, la teneur en zéaralénone était proche de la limite de détection.

Exemple

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 zéaralénone 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.

• Exposition de la population française

L'étude de l'alimentation totale (EAT) entreprise en 2000 [14] 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 9.

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.

La proportion d'individus, dont l'apport théorique de zéaralénone dépasse la DJT établie par le SCF, est de 2,5 % pour les enfants de 3 à 14 ans, et de 31 % pour la population végétarienne.

À titre de comparaison, les niveaux d'exposition alimentaire moyenne de la population française, déterminés lors d'une étude réalisée à l'échelle européenne, faite en 2003 sont du même ordre de grandeur que ceux observés lors de l'étude française (tableau 10).

2.5 Fumonisines

■ Facteurs de développement fongique au champ

Les fumonisines des céréales semblent être produites quasi exclusivement au champ, sur maïs et sorgho par des espèces de *F. verticillioides* (anciennement *F. moniliforme*) et *F. proliferatum*.

Tableau 9 – Estimation des apports alimentaires moyens et des forts consommateurs (P95) pour différents types de population française en zéaralène

Type de population		Apport moyen ($\mu\text{g}/\text{kg p.c./j}$)	Apport au P95 ($\mu\text{g}/\text{kg p.c./j}$)	DJTP pour P95 (1) (%)	Individus pou- vant dépasser la DJTP (%)
Population générale	Adultes (15 ans et +)	0,033	0,070	35	0,2
	Enfants (3-14 ans)	0,066	0,132	65	2,5
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	31

(1) Le SCF a fixé une DJTP de 0,2 $\mu\text{g}/\text{kg p.c./j}$.

Tableau 10 – Exposition alimentaire moyenne de la population française à la zéaralène (Tâche Scoop, 2003)

Population	Exposition moyenne ($\mu\text{g}/\text{kg p.c./j}$)
Population totale adulte	0,027
Adultes hommes	0,029
Adultes femmes	0,024
Enfants (3 à 15 ans)	0,042

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, comme on a pu le constater en France certaines années. Ainsi, les maïs cultivés dans la partie septentrionale sont peu, ou pas, concernés par les fumonisines, alors que ceux cultivés dans la partie méridionale peuvent l'être. Les maïs cultivés en Europe du sud sont ainsi particulièrement exposés à la contamination par les fumonisines.

La présence d'espèces de *Fusarium* producteurs de fumonisines est aggravée par les attaques de pyrale (*Ostrinia nubilalis*), un insecte qui provoque des lésions dans les épis et les tiges, constituant des portes d'entrée pour ces *Fusarium* ([61] [62]), à la différence des autres *Fusarium* pénétrant dans les épis par les soies. Des lésions provoquées par d'autres insectes foreurs tels que la sésamie (*Sesamia nonagrioides*) peuvent constituer des portes d'entrée dans les maïs de *Fusarium* producteurs de fumonisines [63].

Certaines pratiques agronomiques interviennent également dans le développement de *F. verticillioides* et dans la production de fumonisines. Ainsi, plus la récolte est tardive et plus la teneur en fumonisines des grains de maïs est élevée [64]. De même, la teneur en fumonisines est liée à la durée entre la récolte et le séchage des grains de maïs.

■ Impact des procédés technologiques sur la teneur en fumonisines

En semoulerie de maïs, des travaux de répartition des fumonisines à partir de lots commerciaux ([65] [66]) montrent une plus forte contamination des sons (ils sont en moyenne de 1,6 à 2 fois plus contaminés que le grain). Les teneurs relatives en fumonisines des germes par rapport à celles des grains divergent selon les études, alors les semoules et les farines ont des teneurs plus faibles que celles des grains. La répartition de la FB1 est identique à celle de la FB2 puisque le rapport FB1/FB2 est constant dans les différentes fractions [65].

Le devenir des fumonisines concerne aussi la distillation des grains, bien que peu de travaux aient porté sur ce sujet. Bothast [67] a rapporté que la FB1 ne se retrouve pas dans l'éthanol mais dans les drèches (résidu des grains après épuisement de l'amidon par fermentation).

Les fumonisines étant thermostables, elles persistent dans les produits alimentaires transformés à base de maïs, comme la polenta [66].

■ Valeurs toxicologiques de référence

Les fumonisines sont classées dans la catégorie 2B par le CIRC [68]. Pour la FB1, le SCF [69] (2000, 2003) a établi une dose journalière tolérable (DJT), de 2 $\mu\text{g}/\text{kg p.c./j}$ à partir de la dose sans effet néfaste observé (NOAEL) de 0,2 $\text{mg}/\text{kg p.c./j}$ estimée dans des études de toxicité chronique chez le rat (effets sur les reins) et en appliquant un facteur sécurité de 100.

Le JECFA (2001) a établi une dose journalière maximale tolérable provisoire (DJMTP) de 2 $\mu\text{g}/\text{kg p.c./j}$ pour le groupe des fumonisines FB1, FB2 et FB3, seules ou en combinaison, en se basant sur la même NOAEL que le SCF.

■ Exposition de la population humaine aux fumonisines

• Effets sur la santé humaine (données épidémiologiques)

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.

Parmi ces études, celles 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 de cancer de l'œsophage, corrélation qui n'a pas été mise en évidence dans une étude réalisée en Italie [68].

• Exposition de l'Homme

Les tableaux 11 et 12 indiquent les résultats respectivement de l'étude de l'alimentation totale [13] entreprise en 2000, afin de connaître le niveau de consommation et d'exposition de la population française et végétarienne aux fumonisines à partir d'aliments « prêts à consommer » [14] et ceux de la tâche SCOOP.

Les résultats de l'étude EAT, publiés en 2005, sont en moyenne moins importants d'un facteur 10 à 20 que ceux estimés lors de la dernière évaluation française de la tâche SCOOP publiée en 2003. Pour l'essentiel, la différence est due à la prise en compte dans le calcul de la tâche SCOOP de la catégorie d'aliments « céréales et produits céréaliers » en tant que vecteur d'exposition pour la fumonisine, alors que, dans l'étude TDS, celui-ci n'a pas été pris en compte.

L'apport théorique est largement inférieur à la DJT (2 $\mu\text{g}/\text{kg p.c./j}$) pour l'ensemble des groupes étudiés et quel que soit le mode d'estimation.

Tableau 11 – Exposition alimentaire de la population française aux fumonisines

Type de population		Exposition moyenne (µg/kg p.c./j)	Exposition au p95 (µg/kg p.c./j)	DJT au p95 (%)	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	
Population végétarienne (15 ans et +)	Ovolactovégétariens	0,04	0,13	1	
	Lactovégétariens	0,05	0,12	1	
	Végétaliens	0,10	0,29	15	

Tableau 12 – Exposition alimentaire de la population française aux fumonisines (Tâche Scoop, 2003)

Type de population	Fumonisine B1	Fumonisine B1 + B2
	Exposition moyenne (µg/kg p.c./j)	Exposition moyenne (µg/kg p.c./j)
Population totale adulte	0,219	0,265
Hommes adultes	0,227	0,282
Femmes adultes	0,211	0,264
Enfants	0,355	0,445

Les aliments contributeurs à l'exposition de la population française aux fumonisines sont les produits issus du maïs, du blé, du riz, et autres produits céréaliers.

2.6 Toxines de *Claviceps*, reliées à la maladie dite « de l'ergot »

■ Facteurs de développement

Le genre *Claviceps* attaque les inflorescences ou épis de la plupart des graminées et forme des sclérotés ou ergots [70]. Ces derniers sont des amas mycéliens durs, dont les formes, dimensions et couleurs varient selon les espèces et les graminées atteintes. Ils remplacent la graine et contiennent des alcaloïdes, toxines responsables des maladies observées, aussi bien chez l'Homme, que chez l'animal.

Dans les régions tempérées comme la France, c'est l'espèce *Claviceps purpurea* qui est la plus souvent rencontrée et contamine les graminées céréalières : seigle principalement, mais aussi blé, orge et avoine, et de nombreuses espèces de graminées fourragères et gazons cultivés en France (ray-grass, fétuque, dactyle, fléole...). Les sclérotés de cette espèce sont allongés, noirs à l'extérieur, blancs violacés à l'intérieur. Dans certaines céréales, la taille des sclérotés peut être jusqu'à 10 fois plus grande que celle des grains qu'ils remplacent. Ils sont facilement repérables dans le grain non nettoyé. Au contraire, dans les graminées fourragères, les sclérotés restent petits et élancés.

La formation d'ergot est favorisée par des températures voisines de 20 °C et par une humidité relative de 100 % [71]. Les printemps frais et humides favorisent la germination des sclérotés [72].

Les conditions agronomiques, comme un faible apport d'engrais, peuvent retarder la maturité des cultures et contribuer à la formation de fleurs plus ouvertes, donc plus vulnérables à l'infection [68].

L'ergoline, molécule tétracyclique, constitue la structure de base de tous les alcaloïdes de l'ergot. La quantité d'alcaloïdes, contenue dans une sclérote, varie de 0,01 à 0,5 % [71]. Plus de 40 alcaloïdes ont été isolés des sclérotés de *Claviceps*. Ils peuvent être divisés en trois classes :

- les clavines ;
- les ergopeptides (ergotamine, par exemple, synthétisée également par les endophytes), qui sont des dérivés de l'acide lysergique ;
- les dérivés de l'acide isolysergique (ergotamine par exemple).

■ Impact des procédés technologiques

Ces alcaloïdes sont très instables aux UV et à la chaleur. Leur toxicité diminue au cours de stockage prolongé. Ils sont extrêmement sensibles à l'oxydation photolytique, l'hydratation et l'épimérisation du cycle ergolène en position C₈, qui peut se produire, aussi bien en conditions acides, que basiques [74].

■ Effet sur la santé humaine

La « maladie de l'ergot » ou « ergotisme », est connue pour être responsable des « feux de Saint Antoine » ou « mal des ardents » observés chez l'Homme depuis le Moyen-Âge en Europe où cette affection provoqua la mort de centaines de milliers de personnes du 8^e au 16^e siècle. Mais, c'est depuis le 19^e siècle qu'une relation a été faite entre cette « maladie » et l'ingestion de sclérotés produits par le genre *Claviceps* contenant des mycotoxines de type alcaloïdes pour en faire une mycotoxicose aiguë et, depuis le 20^e siècle, que des alcaloïdes responsables, contenus dans l'ergot, ont été identifiés.

Les maladies, liées à la présence d'ergot, apparaissent surtout à l'automne. Les symptômes comprennent un ralentissement de la circulation sanguine, qui provoque l'alternance d'une sensation de grande chaleur et de grand froid, puis de la gangrène aux extrémités du corps. Des convulsions nerveuses se produisent, parfois, pouvant entraîner la mort.

Même si ce type de mycotoxicoses est devenu rare, des cas d'intoxications aiguës, survenus au 20^e siècle sont rapportés.

Exemple

En France, un épisode se serait produit en 1951 à Pont Saint-Espirit, dans le Gard, après la consommation de pain, mais qui est resté non confirmé. Les derniers épisodes mentionnés dans la littérature se sont produits d'un côté :

- en Éthiopie, en 1978, suite à la consommation d'un mélange de céréales contenant 0,75 % d'ergot de *C. purpurea*, 93 personnes ont été intoxiquées dont 47 moururent. L'alcaloïde ergométrine fut détectée dans les sclérotés [75] ;

- dans un village, en Inde en 1975, suite à la consommation de millet contenant 1,5-17,4 % d'ergot de *C. fusiformis*. Le groupe des alcaloïdes clavines fut détecté dans les sclérotés à une teneur totale de 15-199 mg/kg. Dans un village voisin, où la population a consommé du millet contenant 0,1-3,8 % d'ergot avec une teneur en même type d'alcaloïdes de 15-26 mg/kg, aucun cas d'intoxication n'a été rapporté [75].

L'AESA/EFSA, dans son avis d'avril 2005 [76] indique qu'« aujourd'hui, les données sur les propriétés toxicologiques des alcaloïdes de l'ergot, pris individuellement, sont trop limitées pour sélectionner des marqueurs toxiques individuels permettant de surveiller l'étendue de la contamination ».

2.7 Perspectives d'évolution des risques

L'évolution constatée au début du 21^e siècle des pratiques culturelles n'est pas sans avoir un impact sur l'évolution de l'attention portée à l'évaluation du risque relatif aux mycotoxines via l'alimentation humaine comme : l'extension du mode de production biologique, celles consécutives au changement climatique, et celles liées à la pratique du non labour. Ce dernier aspect est traité dans l'autre article [F 1 138] à paraître ultérieurement – voir le *Pour en savoir plus*.

L'un des principaux enjeux environnementaux passés en revue lors du « Grenelle de l'environnement », en octobre 2007, est la diminution de l'usage des pesticides. Parmi eux, les fongicides sont majoritaires en terme de quantité et sont passés en livraisons de plus de 60 000 à moins de 40 000 tonnes de 1999 à 2005 (cf. **Nota**). Le cas du mode de production biologique restreint le recours aux traitements fongicides, mais requiert des pratiques agricoles évitant la contamination par les moisissures, telles que la rotation des cultures, le travail du sol, l'antécédent culturel, 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. Cet aspect, ayant été traité dans un rapport (cf. **Nota**) de l'Afssa en 2003, n'a pas été repris dans cet article. Néanmoins, le souhait du triplement de la surface en agriculture biologique d'ici 2010 (1,8 % des surfaces agricoles en 2005) est à considérer.

Nota

Source Agreste, Journal « Le Monde » du 25 octobre 2007, p. 24.

Évaluation nutritionnelle et sanitaire des aliments issus de l'agriculture biologique. Rapport Afssa 2003.

Concernant le changement climatique, le 4^e rapport du Groupe intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC Novembre 2007, Co-Prix Nobel de la Paix 2007) établit que, pour l'Europe, « les scénarii du climat indiquent un réchauffement significatif, plus grand, en hiver, pour le Nord et, en été, pour l'Europe méridionale et centrale » et qu'« il est projeté une augmentation au Nord et une diminution au Sud de la moyenne annuelle des précipitations ». Des conséquences sont attendues en pratiques agricoles, telles que « des variétés qui sont cultivées principalement en Europe méridionale (maïs, tournesol et soja) deviendront possibles plus au Nord et à plus haute altitude au Sud », mais que « l'augmentation de la survenue de certaines conditions extrêmes (stress hydrique durant la floraison, pluies à l'ensemencement ou la récolte) affecterait le rendement de production ».

Ces scénarii pourraient conduire à des modifications de la composition de la flore toxigène ou influencer par divers facteurs (température, oxygénation, substrats et nutriments, compétitivité inter-espèces...) la synthèse et l'excrétion de mycotoxines. Il faudra exercer une vigilance à l'égard de ce risque d'extension de la contamination des cultures au champ par les moisissures toxigènes en fonction de ces nouveaux aléas climatiques.

3. Conclusions

Le risque relatif aux mycotoxines est d'origine naturelle, l'homme n'en maîtrisant pas la survenue qui est liée aux conditions climatiques notamment. L'évolution de ces conditions

au cours du 21^e siècle fera porter une attention à la révision et au suivi réguliers de l'évaluation des risques.

Les groupes de mycotoxines considérés actuellement comme importants des points de vue agro-alimentaire et sanitaire reliés à la matrice « céréales », sont les aflatoxines, l'ochratoxine A, les trichothécènes et, tout spécialement, le déoxynivalénol, les fumonisines et la zéaralénone. 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 telles que les alcaloïdes de l'ergot.

La caractérisation du danger est fondée sur des données toxicologiques la plupart du temps incomplètes. 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, la caractérisation du risque doit être affinée à l'aide de nouvelles données sur les effets toxiques obtenues à partir d'études qui devront être réalisées selon des lignes directrices reconnues internationalement.

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 données disponibles actuellement sur la multi-contamination sont disparates et rendent difficile la caractérisation de ces risques associés. C'est pour cette raison que cet aspect n'a pas été transcrit dans cet article.

Toutefois, l'importance de cette question reflétant une réelle préoccupation, mériterait l'engagement d'études expérimentales spécifiques.

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

La crédibilité des données de contamination dans les produits consommés par la population humaine est indispensable pour un calcul tout aussi crédible de l'exposition de la population. Cette crédibilité est liée à la fiabilité des résultats des analyses effectuées s'appuyant sur des outils-méthodes d'échantillonnage, de détection et de dosage. Bien que non traité dans cet article, puisque exposé dans un article précédent [P 3 330] – voir le *Pour en savoir plus*, cet aspect est à considérer avec attention, avec, là aussi, la poursuite des travaux de mise au point, validation et normalisation d'outils analytiques adaptés.

Remerciements

L'auteur exprime toute sa gratitude à **Sylviane DRAGACCI** pour la relecture de cet article et aux membres du groupe de travail ayant contribué à la rédaction du rapport source de ce présent article.

Pierre GALTIER (INRA, présidence), Christine BUREL (Afssa), Sylviane DRAGACCI (Afssa), Michel ETIENNE (INRA), François GROSJEAN (Arvalis), Philippe GUERRE (École Vet. Toulouse), Jean-Pierre JOUANY (INRA), Bruno LE BIZEC (Laberca), Jean-Charles LEBLANC (Afssa), Bernard-Marie PARAGON (École Vet. M. Alfort), Dominique PARENT-MASSIN (UBO), Isabelle OSWALD (INRA), Daniel THOUVENOT (INRA), Alexandra TARD (Afssa).