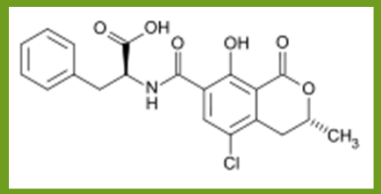
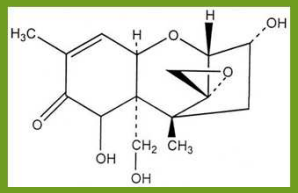
RMT Quasaprove
Forum d'échanges et de concertation
6 novembre 2015 ; Paris, MNE (ACTA)
"Mycotoxines de Stockage"





Approche systémique de la prévention du risque de détérioration des stocks de céréales alimentaires par les moisissures de stockage et leurs mycotoxines

F. FLEURAT-LESSARD
CR INRA Bordeaux-Aquitaine - UR 1264 MycSA – CS 20032 – F-33882 Villenave d'Ornon, France
francis.fleurat-lessard@bordeaux.inra.fr

Plan de la présentation

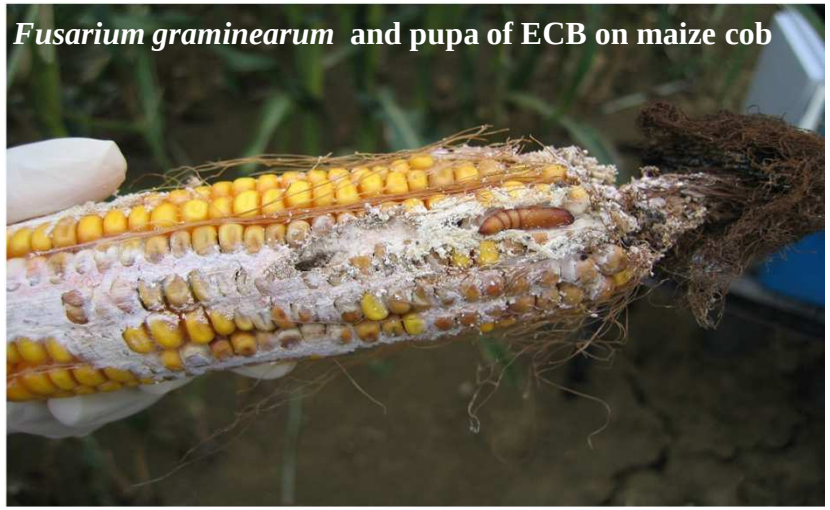
- ❑ 1. – Le rôle of des moisissures “de stockage “ dans le processus de détérioration de la qualité sanitaire des céréales entreposées
- ❑ 2. – Ecophysiologie des moisissures des grains stockés et conditions favorables à leur croissance et à la toxinogenèse
- ❑ 3. – Gestion systémique des risques de contamination des grains stockés par les moisissures et les mycotoxines
  - Identification des pratiques de stockage à risque d’échauffement d’origine fongique
  - Outils de surveillance des indicateurs précoces de développement fongique
  - Prévention et anticipation (prévision) de la croissance d’espèces mycotoxinogènes
  - Solutions pratiques de décontamination ou de détoxification
- ❑ 4. - Conclusion et direction des recherches à poursuivre

1. – Le rôle of des moisissures “de stockage “ dans le processus de détérioration qualitative des céréales entreposées

- **Les moisissures constituent le principal risque de détérioration des céréales stockées et des aliments dérivés** (Christensen and Kaufmann, 1965; Bath et al., 2010).
- **Le développement des moisissures “de stockage” provoque l’échauffement du grain et la formation de points chauds, avec prise en masse, perte de matière sèche, réduction de la valeur nutritionnelle et diminution de la capacité germinative des semences** (Wallace and Sinha, 1962; Mills, 1989). **De plus, certaines espèces de moisissures peuvent produire des mycotoxines en conditions de stockage particulièrement critiques**
- **La FAO estime que 25% des denrées alimentaires d’origine végétale sont contaminées par des mycotoxines** (Wu, 2007). **Le niveau d’occurrence (élevé) des espèces mycotoxinogènes et de contamination des grains au cours de la conservation par les mycotoxines est une préoccupation sociale et économique très importantes pour l’UE**
- **En conséquence, la mise en oeuvre de stratégies de gestion intégrée (préventive et prédictive) visant à limiter ou à réduire les risques de contamination des céréales et des aliments dérivés par les mycotoxines est fortement encouragée par l’EFSA.**

La Règlementation européenne doit être scrupuleusement appliquée pour éviter tout risque d’introduction de céréales contaminées par des mycotoxines au cours de leur transformation en aliments (homme ou animal) (EU Regulations 178/2002, 1881/2006, 1126/2007 and 105 & 165/2010).

Quelques images de symptômes d'infection des grains par des moisissures « du champ » ou « de stockage » : orge et maïs contaminés par *Fusarium* et *Penicillium* (produisant DON, ZEA, OTA & AFB1)



Moisissures mycotoxinogènes se développant sur les denrées brutes et différentes mycotoxines produites par chaque espèce (adapté de Magan et al., 2003 et Cahagnier et al., 2005)

Genre de champignon	Mycotoxines produites	Substrats et denrées contaminés
Aspergillus	Aflatoxines (AFB1, AFG1) Stérigmatocystine Ochratoxine A (OTA)	Maïs, arachide, graines de coton, riz, légumes secs, etc.
Penicillium	Patuline, Citrinine, Acide cyclopiazonic, OTA	Fruits et jus de fruits, blé, riz, fromages, noix, ensilage
Alternaria	Alternariol Acide ténuazonique	Fruits, oléagineux, légumes frais, produits transformés de pomme ou de tomate
Claviceps	Alcaloïdes d'ergot	Blé et produits dérivés, seigle
Fusarium	Trichothécènes (DON, NIV, T-2 toxine, DAS) Zéaralénone (ZEA), Fumonisines (FB1), Fusarine, Moniliformine	Blé, Maïs, orge, riz, seigle, avoine, noix

Les mycotoxines en caractères rouge font l'objet d'une règlementation sur la teneur seuil maximum acceptable (food et feed)

2. Ecophysiologie des moisissures des grains stockés et conditions favorables à leur croissance et à la toxinogenèse

- **De nombreuses espèces fongiques peuvent se développer sur les céréales après la récolte quand la teneur en eau des grains reste supérieure à un seuil limite pour leur croissance (c-à-d, en présence d'eau libre dans le grain ($a_w > 0,70$))**
  - [Les espèces qui produisent des mycotoxines A-R appartiennent aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*]
  - [La teneur en eau minimale autorisant le développement de moisissures est ≥ 14.5% (pour le blé)]
  - [Pour que les espèces mycotoxinogènes commencent à produire des mycotoxines, la teneur en eau des grains doit être encore plus élevée que pour la croissance fongique]
- **La toxicité des mycotoxines de la mycoflore des grains stockés représente un danger pour le consommateurs (humain ou animal) et peut causer des maladies de type « aspergillose » (mycotoxicose) chez les personnels des OS de grains & graines**
  - [La consommation d'aliments contaminés ou l'inhalation de poussières de grains "mycotoxinés" par les personnels des silos de stockage représentent les principaux risques pour la santé]
  - [Des règlements drastiques sont imposés dans l'UE pour limiter la quantité de mycotoxines dans les aliments à base de céréales]
- **Il existe une compétition entre toutes les espèces de la mycoflore de stockage**
  - [Une interaction dynamique se crée au cours du stockage avec une succession d'« écotypes »]

Les genres *Aspergilllus* et *Penicillium* sont les espèces mycotoxinogènes majeures

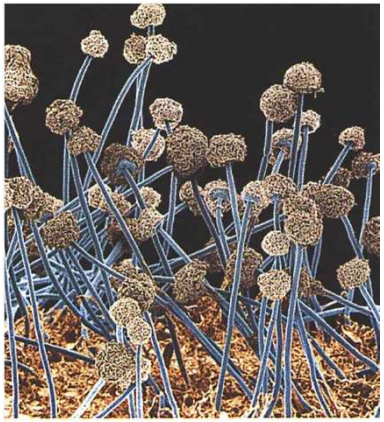
[exemple d'espèces fongiques productrices d'ochratoxine A]

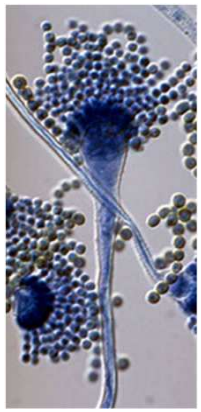
Aspergillus ochraceus en culture

Frontside

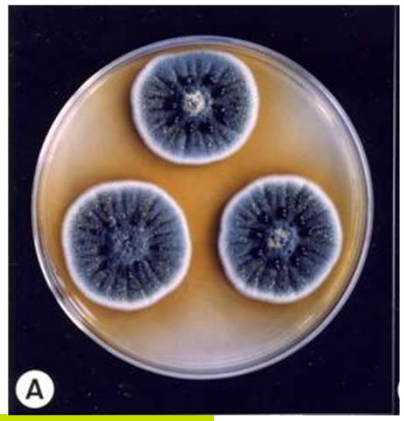
Backside

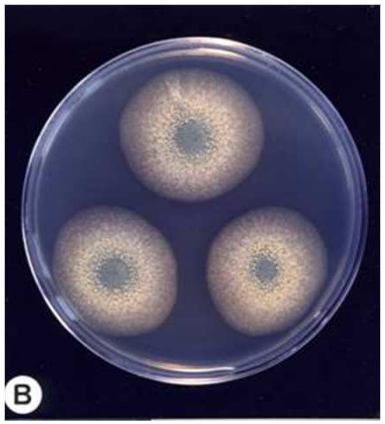
Conidiophore (fructification) d'*Aspergillus*



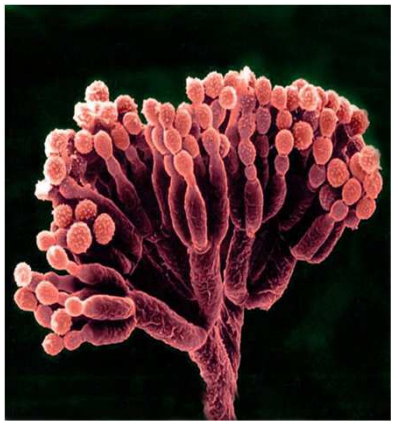


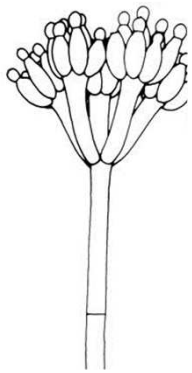
Penicillium verrucosum en culture

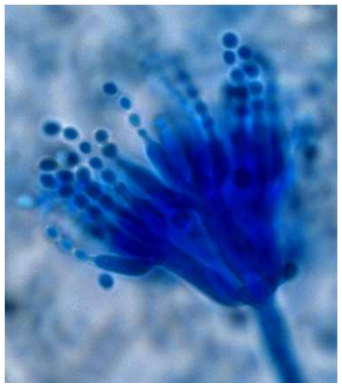




Conidiophore (fructification) de *Penicillium*

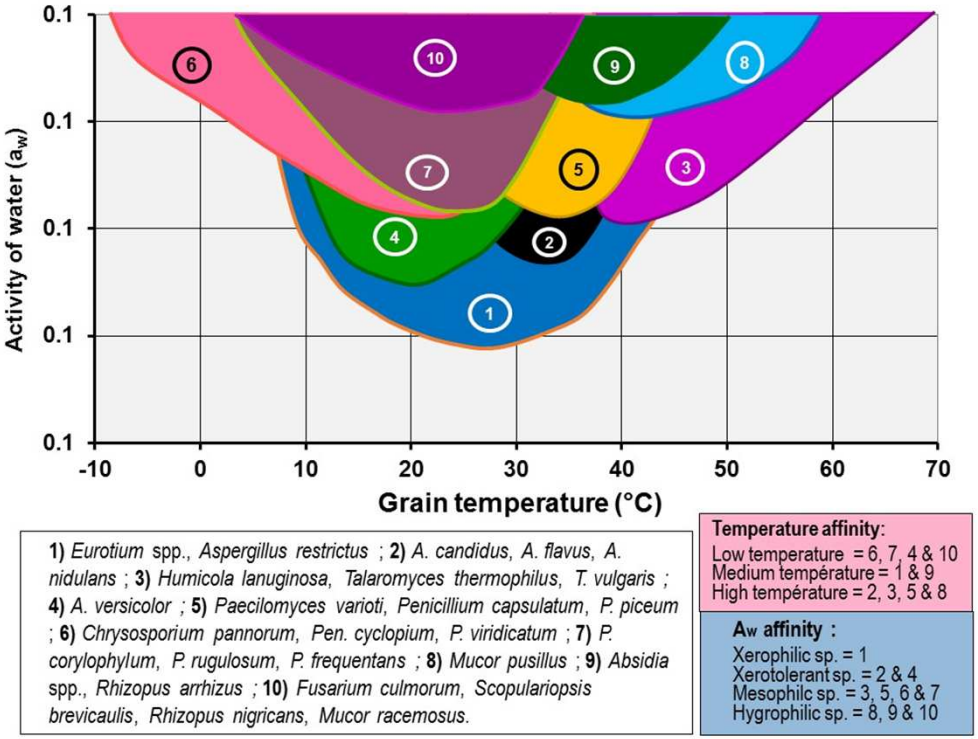






Chaque espèce de la mycoflore des grains se développe dans une niche écophysiologique spécifique

L'évolution et la croissance dépendent de l'état physico-chimique des grains (température and a_w)



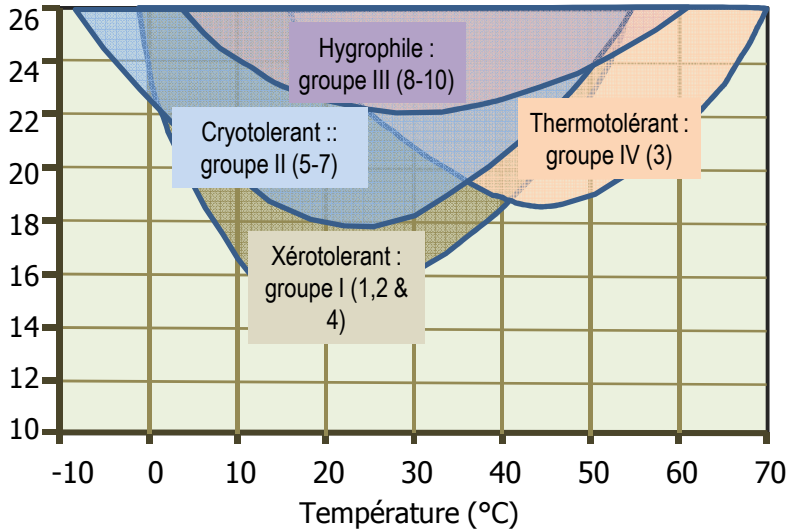
1) *Eurotium* spp., *Aspergillus restrictus* ; **2)** *A. candidus, A. flavus, A. nidulans* ; **3)** *Humicola lanuginosa, Talaromyces thermophilus, T. vulgaris* ; **4)** *A. versicolor* ; **5)** *Paecilomyces varioti, Penicillium capsulatum, P. piceum* ; **6)** *Chrysosporium pannorum, Pen. cyclopium, P. viridicatum* ; **7)** *P. corylophylum, P. rugulosum, P. frequentans* ; **8)** *Mucor pusillus* ; **9)** *Absidia* spp., *Rhizopus arrhizus* ; **10)** *Fusarium culmorum, Scopulariopsis brevicaulis, Rhizopus nigricans, Mucor racemosus.*

Temperature affinity:
Low temperature = 6, 7, 4 & 10
Medium température = 1 & 9
High température = 2, 3, 5 & 8

Aw affinity :
Xerophilic sp. = 1
Xerotolerant sp. = 2 & 4
Mesophilc sp. = 3, 5, 6 & 7
Hygrophilic sp. = 8, 9 & 10

Adapté de Lacey *et al.*, 1980

Teneur en eau du grain (base humide)



La mycoflore des grains stockés peut être classée en 4 groupes écophysiologiques : i/ hygrophiles *(e.g. Fusarium* spp.); ii/ cryotolérant (e.g. *Penicillium verrucosum*); iii/ thermotolérant (e.g. *Aspergillus flavus*); iv/ xérotolerant (e.g. *Eurotium* spp.)

Il existe un seuil de teneur en eau minimale différent pour la croissance fongique et pour la production de mycotoxines (exemple du blé tendre)

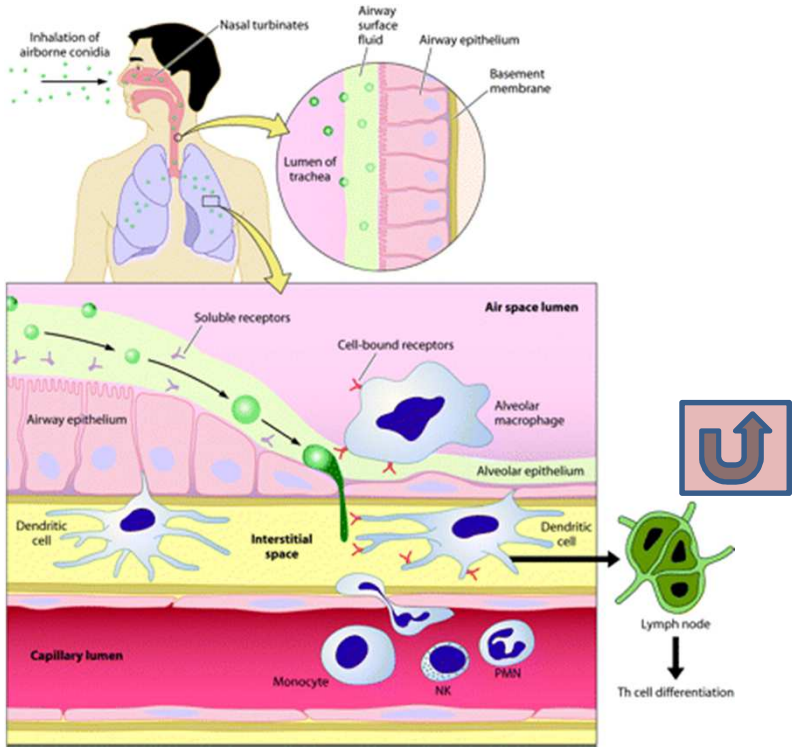
Espèces fongiques	Mycotoxine produite	A_w limite pour la croissance fongique	Teneur en eau minimale de croissance (%)	A_w limite pour la production de mycotoxines	Teneur en eau limite pour la mycotoxino-genèse (%)
Aspergillus flavus	**AFB1**	0,78 – 0,84	**17,6 – 19,0**	0,84	**19,2**
A. parasiticus	**AFB1**	0,84	**19,0**	0,87	**20,2**
A. ochraceus	**OTA**	0,77	**16,5**	0,85	**19,6**
Penicillium patulum	**Patuline**	0,81	18,0	0,95	27,0
P. expansum	**Patuline**	0,82 – 0,84	18,3 - 19	0,99	30,0
P. aurantiogriseum	**OTA**	0,82 – 0,85	**18,5 – 19,6**	0,87 – 0,90	**20,2 – 22,0**
P. verrucosum	**OTA**	0,80-0,81	**18,0**	0,83 – 0,86	**18,8 – 19,8**
Fusarium proliferatum	**FB1**	0,88	20,5	0,93	25,0
F. verticillioides	**FB1**	0,88	20,5	0,93	25,0

La toxicité des mycotoxines affecte les consommateurs des aliments contaminés et peut causer des mycotoxicoses respiratoires ou cutanées chez les personnels en OS

Principaux risques de maladies chroniques encourus par les consommateurs d'aliments issus de produits végétaux contaminés par des mycotoxines

Mycotoxine	Source	Maladie chronique
Aflatoxine B1	Maïs, arachides et grain stocké	Cancer du foie, hépatome
DON & NIV	Blé, maïs & orge	Réponse immunitaire déprimée; aleucie toxique d'origine alimentaire
Zéaralénone	Maïs & blé	Troubles ostrogéniques
Ochratoxine A	Orge, blé et grains stockés	Néphropathie; carcinome des reins
Fumonisine B1	Maïs	Leucoencéphalo-malacie des équidés; neurotoxicité
Patuline	Jus de pomme & ensilages	Neurotoxicité; troubles intestinaux
ergot	Seigle, blé, avoine	Nausées; ergotisme convulsif

Aspergillose chez l'humain (pulmonaire)



Plusieurs Règlements européens fixent la teneur maximum acceptable de certaines mycotoxines dans les aliments à base de céréales (2006 – 2007 – 2009 – 2014) (données en µg.kg^{-1})

Type d'aliment à base de céréales : / Mycotoxines	Céréales brutes pour régime adulte (excepté maïs)	Aliments à base de céréales pour enfant (< 12 ans) ou babyfood	Aliments transformés à base de céréales (tous consommateurs)	Pain, patisseries, biscuits, céréales de petit déjeuner, muesli	Maïs-grain nutrition humaine	Aliment complet/ complémentaire pour animaux (base céréales)	Aliments transformés troupeau laitier (> 4 m)	Aliments transformés (jeunes < 4 m)	Aliment complet/ complémentaire pour bovin, ovin …(> 4 m)	Aliment complet/ complémentaire pour porcs & volailles (> 4 m)	Aliment complet pour truies et porcelets	Aliment complet/ complémentaire pour porcs d'engraissement
AFB1	2 - 5	0.1				20	5	10		20	10	20
OTA	5	0.5	3	-	5	250				50-100		
DON	1250	200	750	500	1750	8000*	5000	2000		900		
ZEA	100	20	75	50	200	2000**		100				250
FB1+FB2	-	200	1000	400	2000		500					
Patuline		10		10								
Ergot	0.05% (ergot en poids)	50000 (en UK)	50000 (en UK)			0.1% (ergot en poids)						

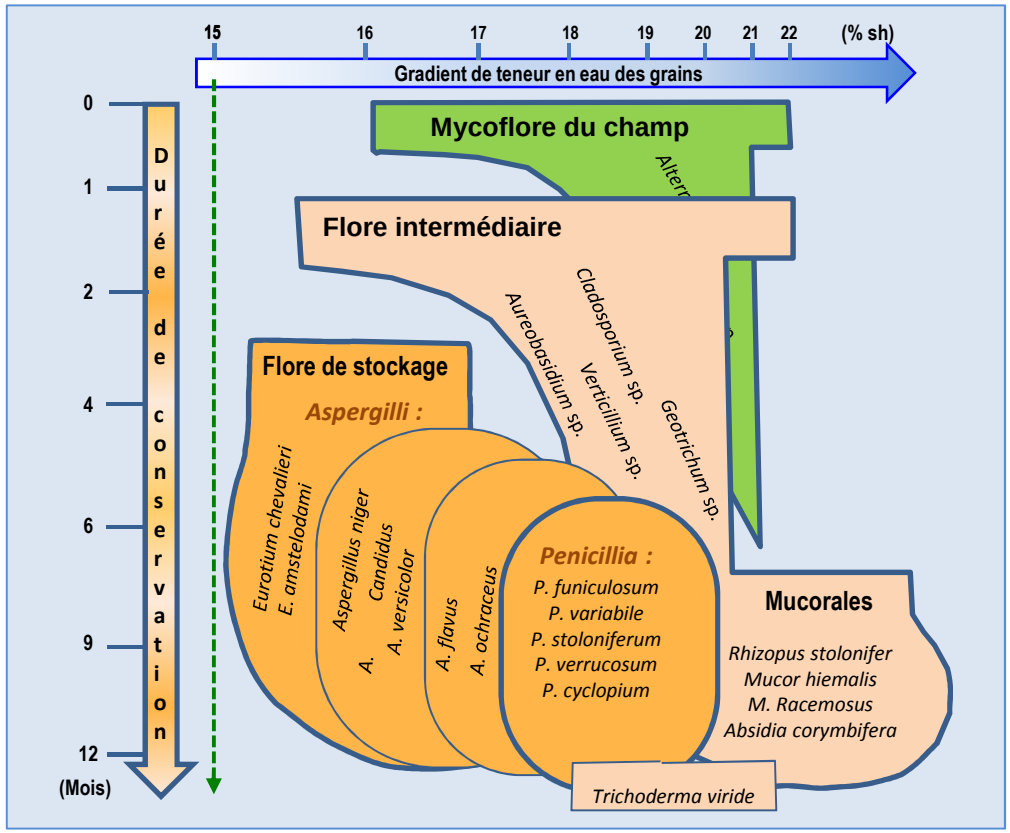
Ecophysiologie des moisissures de stockage et succession d'espèces différentes pendant la période de conservation du maïs

La co-occurrence des espèces fongiques dans le grain est dépendante du résultat des compétitions et antagonismes entre espèces colonisatrices en relation avec des conditions de température et de teneur en eau des grains plus ou moins favorables.

Dans le grain humide, la flore intermédiaire va persister sur de longues périodes de stockage.

Dans le grain moins humide, la flore de stockage (en particulier *Penicillium* spp.) prend progressivement la place de la flore intermédiaire

Les espèces hygrophiles, dominantes à la récolte, sont finalement remplacées par des espèces xérotolérantes ou de la flore intermédiaire en relation avec l'Aw des grains



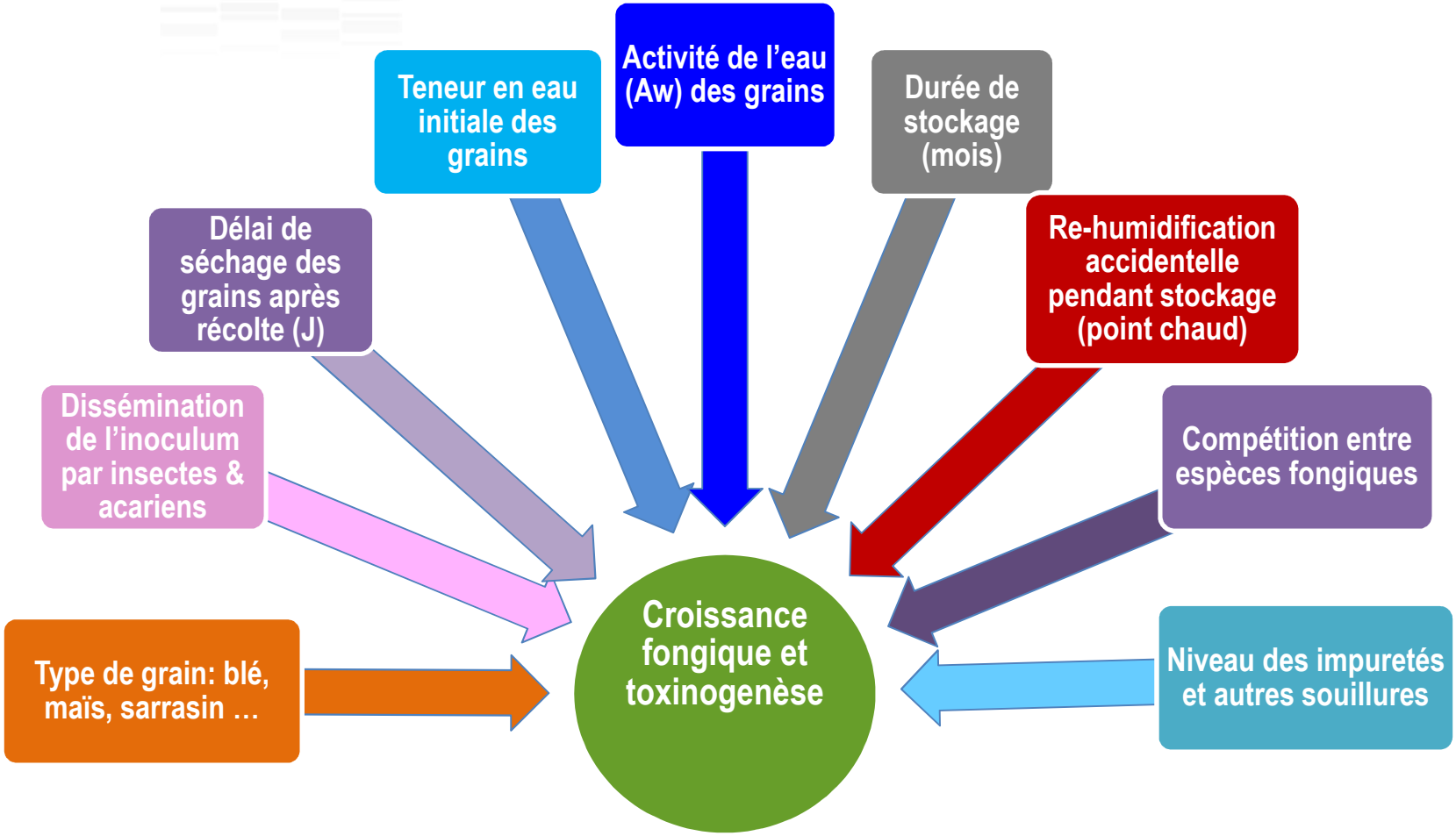
Adapté de Pelhate, 1988

❑ 3. - Gestion systémique des risques de contamination des grains stockés par les moisissures et les mycotoxines

1. Identification des pratiques de stockage à risque d'échauffement d'origine fongique
2. Outils de surveillance des indicateurs précoces de développement fongique
3. Prévention et anticipation (prévision) de la croissance d'espèces mycotoxinogènes
4. Solutions pratiques de décontamination ou de détoxification

1. Identification des pratiques de stockage à risque d'échauffement d'origine fongique (1)

- **Facteurs-clés influençant le développement de la mycoflore de stockage**



Adapté de Pardo et al, 2006 & de Magan et Aldred, 2004

1. Identification des pratiques de stockage à risque d'échauffement d'origine fongique (2)

- **Séchage et maintien de l'Aw au-dessous du seuil pour la croissance fongique**

L'objectif premier des BPS contrariant la croissance fongique dans la masse des grains stockés est de maintenir la teneur en eau au-dessous du seuil minimal permettant la germination de l'inoculum fongique et la croissance des moisissures. Le refroidissement des grains au-dessous de 15°C permet d'augmenter la durée de stockage sans risque

Pour les principales espèces fongiques mycotoxinogènes, le seuil minimal de teneur en eau nécessaire pour la croissance fongique est de 16.5% (sh).
Cette limite se situe bien au-dessus de celle recommandée pour une conservation sans risque des céréales en grains (14.5% maximum).

Espèce fongique	Mycotoxine	A_w limite de croissance	Teneur en eau corespondante (%)
Aspergillus flavus	AFB1	0.78-0.84	**17.6-19.0**
A. parasiticus	AFB1	0.84	**19.0**
A. ochraceus	OTA	0.77	**16.5**
P. aurantiogriseum	OTA	0.82-0.85	**18.5-19.6**
P. verrucosum	OTA	0.80-0.81	**18.0**
Fusarium proliferatum	FUMB1	0.88	20.5
F. verticillioides	FUMB1	0.88	20.5

La condensation d'eau (liquide) sur les charpentes métalliques au-dessus des tas de grains est souvent à l'origine de la réhydratation du grain et du développement consécutif de moisissures pendant la conservation

2. Outils de surveillance des indicateurs précoces de développement fongique (1)

- **Détection des odeurs de moisissure** avec un nez électronique

Les espèces fongiques mycotoxinogènes modifient la composition de l'odeur des grains (Olsson et al., 2002). La détection des substances volatiles néo-formées par les moisissures peuvent servir d'indicateur précoce de la croissance fongique

La technologie du « nez électronique » permet de différencier un grain sain d'un grain en voie de moisissure à partir des odeurs prélevées dans l'espace de tête d'un échantillon de grain, même à un stade précoce de la contamination fongique

Principales substances volatiles responsables de l'odeur de moisi
1-octen-3-ol
3-octanone
2-méthyl-1-butanol
3-méthyl-1-butanol
2-méthyl-1-propanol
3-methylfurane
2-heptanone
3-pentanone
Géosmine

Nez électronique compact et portable

Le nez électronique permet de reconnaître la « signature » des métabolites fongiques volatils par un traitement statistique des données par analyse multidimensionnelle (e.g. ACP)

2. Outils de surveillance des indicateurs précoces de développement fongique (2)

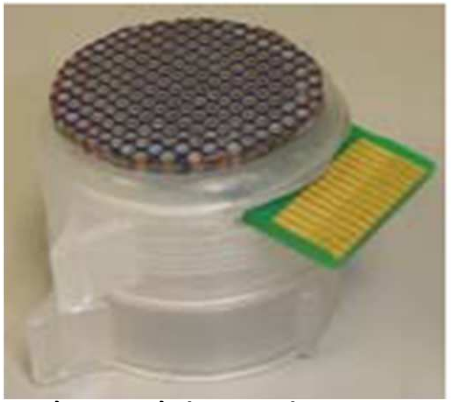
• Monitoring de la concentration en CO_2

La production de dioxyde de carbone (CO_2) par le grain est directement corrélée à l'activité de la croissance fongique et l'analyse de la teneur en CO_2 dans la masse des grains est un bon indicateur de risque de moisissure

De nombreuses études ont montré que des capteurs à CO_2 peuvent être utilisés pour détecter précocement le développement de moisissures dans les silos de stockage (Bath et al., 2003; Maier et al., 2006; Neethirajan et al., 2010).
Le seuil de teneur en CO_2 correspondant à un stockage sans risque est situé entre 400 and 500 ppm (v/v). Quand la teneur en CO_2 s'approche de 1000 ppm, c'est le signe d'un début de développement de moisissures. Des concentrations de 3000 ppm ou plus, mesurées dans une masse de grains, sont le signe d'un forte contamination des grains par les moisissures, ce qui peut être confirmé si la teneur en eau du grain à cet endroit est >>15% (risque de point chaud).

Ce genre de capteur miniature de CO_2 n'est pas utilisé en France

Kit de test de la teneur en CO_2 dans le grain (Canada & USA)

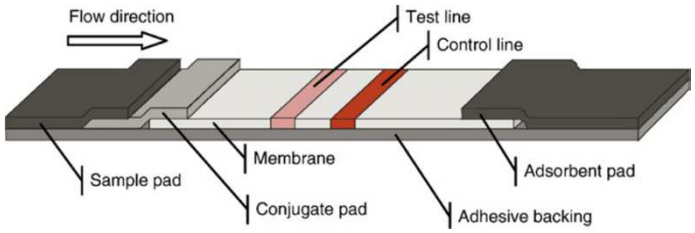


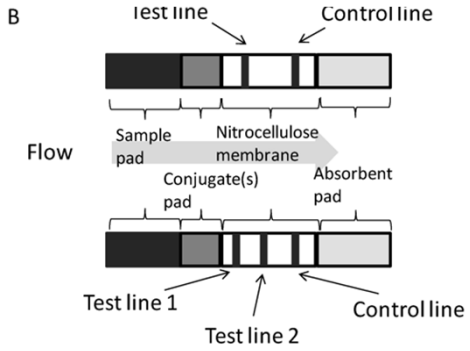
Capteur à CO_2 à base de nanoparticules composites

2. Outils de surveillance des indicateurs précoces de développement fongique (3)

- **Test visuel rapide (1) : test membrane immuno-chromatographique (ICStrip)**

Test bandelette pour la mesure semi-quantitative de la teneur en mycotoxines du grain





(= lateral-flow device)

Tests bandelettes commercialisés pour l'analyse des mycotoxines dans les produits céréaliers

Mycotoxine recherchée	Gamme de quantification ($\mu g.kg^{-1}$)	LdD ($\mu g.kg^{-1}$)
AFB1	5 - 100	4
FUM B1	500 - 5000	300
ZEA	100 - 500	75
DON	500 - 5000	300
OTA	0.5 - 50	1.9

Les LdD des « strips » sont compatibles avec les limites de tolérance fixées par la législation Européenne

2. Outils de surveillance des indicateurs précoces de développement fongique (4)

- **Test visuel rapide (2) : Kit immuno-enzymatique (ELISA) (semi-quantitatif)**

Kits ELISA commercialisés pour l'analyse des mycotoxines dans les produits céréaliers

Mycotoxin	Quantitation range ($\mu g.kg^{-1}$)	LOD ($\mu g.kg^{-1}$)
AFB1	2 - 50	2
FUM B1	250 - 5000	200
ZEA	25 - 1000	20
OTA	2 - 4	1.9
DON	250 - 5000	200
T-2 & HT-2	25 - 500	20

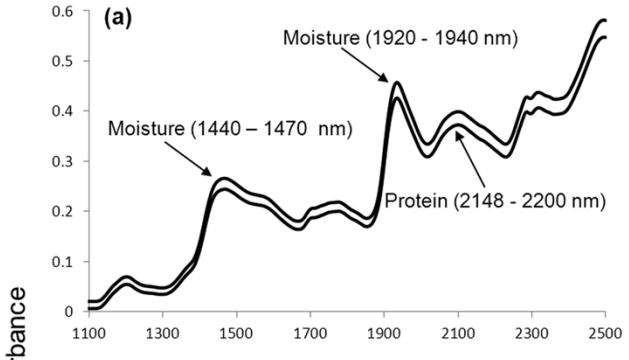
Kit ELISA pour le dosage rapide de l'OTA

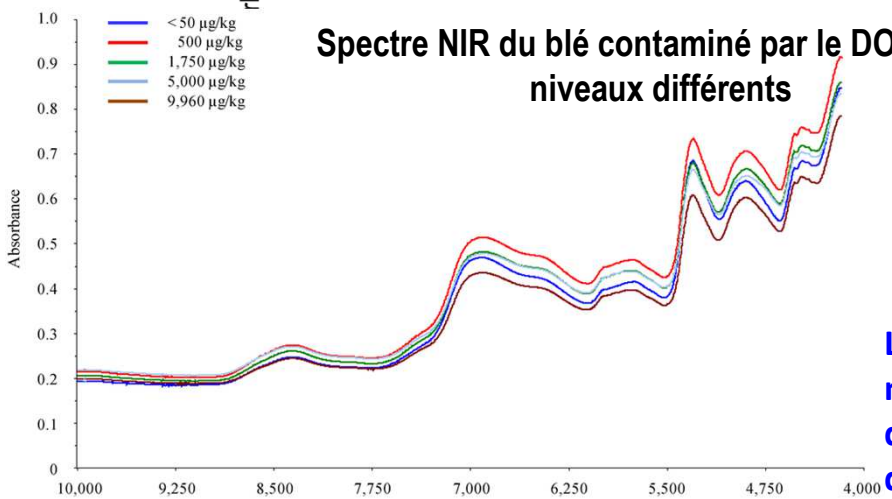
La limite de quantification des kits ELISA est compatible avec les seuils de tolérance pour OTA, AFB1, DON, ZEA and FUMB1 fixés par la règlementation européenne

2. Outils de surveillance des indicateurs précoces de développement fongique (5)

- Evaluation rapide de la contamination par Analyseur IR (**spectroscopie NIR)**

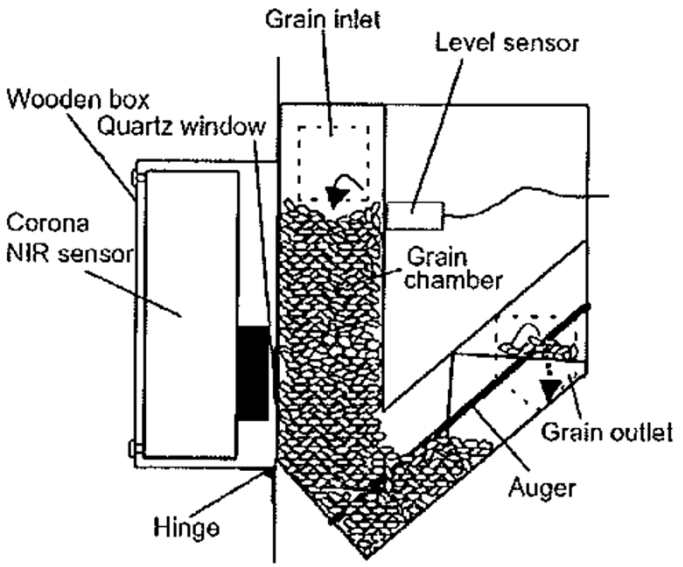
Spectre typique NIR du maïs





Spectre NIR du blé contaminé par le DON à des niveaux différents

Des analyseurs NIRS peuvent être installés « en ligne » sur le flux de grains pour la mesure du DON



(Maertens, 2004)

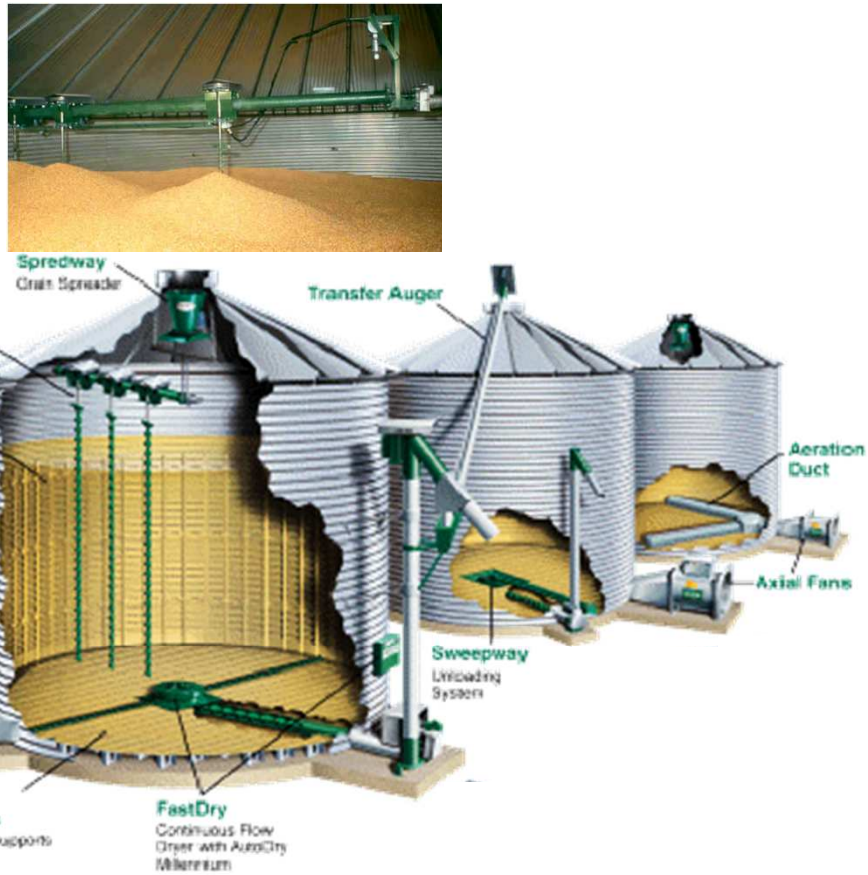
La technologie de test rapide par l'analyseur NIRS en ligne n'a été développée que pour le DON. Des progrès d'amélioration sont en cours avec la technologie d'analyse d'image NIR hyperspectrale (McMullin et al., 2015)

3. Prévention et anticipation de la croissance des moisissures toxinogènes (1)

- **Séchage direct en cellule de stockage**

Lorsque le risque de développement de moisissures et de contamination par des mycotoxines est connu, le lot de grain peut être séché dans des cellules équipées de systèmes appropriés : i) ventilateur centrifuge ; ii) brûleur à gaz ; iii) gaines perforées de distribution de l'air chaud ; iv) système de brassage continu du grain pour mélanger le grain séché avec le grain encore humide.

Utilisé surtout en pays à climat humide



3. Prévention et anticipation de la croissance des moisissures toxinogènes (2)

- **Ventilation de refroidissement à l'air ambiant ou à l'air réfrigéré**

L'abaissement de la température du grain au dessous de 10°C réduit la capacité de croissance des moisissures comme *Penicillium verrucosum,* principal producteur d'OTA en France

Plus la température du grain est basse, plus faible est la production des mycotoxines	**Humidité du grain (% s.h.)**	
	Blé	**Orge**
Humidité optimale à 24°C	21.8	27.1
Humidité minimale à 24°C	**18.5**	**21.6**
Température minimale de croissance	4°C	4°C
Humidité minimale à 4°C	**28.6**	**40.5**

D'après Sanchis et al., 2005)

Ventilation à l'air ambiant en silo à plat

L'usage d'un contrôleur électronique de ventilation permet de faire des économies d'énergie

Machine frigorifique pour ventilation réfrigérée

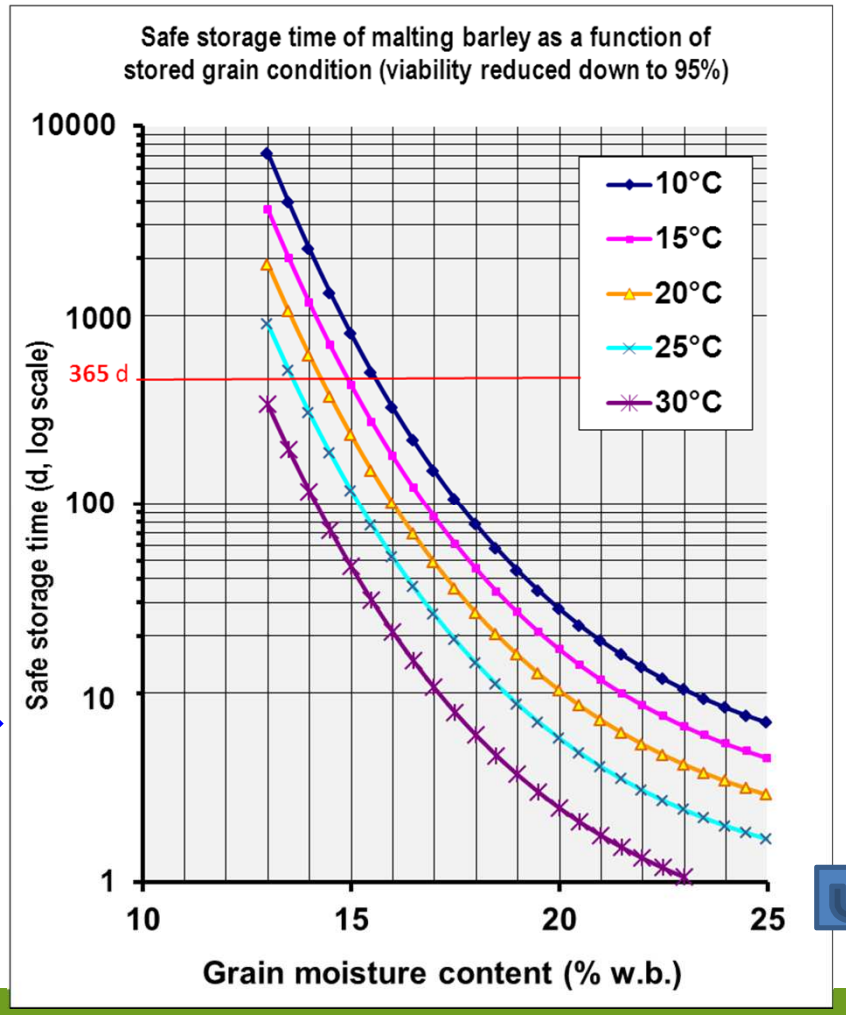
3. Prévention et anticipation de la croissance des moisissures toxinogènes (3)

- **Prédiction de la durée de stockage sans risque de détérioration**
  combinant température et Aw du grain (Jacobsen and Fleurat-Lessard, 2002)

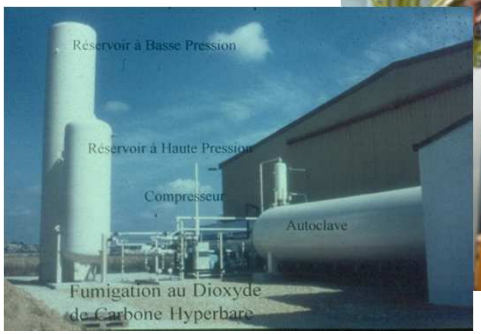
Plus la teneur en eau et la température des grains stockés sont élevées, plus la période de conservation sans risque de détérioration est courte. Et la capacité germinative est très vite altérée par les moisissures

Exemple de prédiction de la période de stockage sans risque de l'orge de brasserie avant que la capacité germinative ne s'abaisse au-dessous de 95% (modèle théorique basé sur le résultat d'expériences réalisées par E.E. Jacobsen dans les années 1990-2000 au Danemark)

A 30°C, l'orge à 14% t.e. conserve sa capacité germinative seulement pendant 100 j (courbe violine), contre 1000 j à 15°C (courbe rouge)



4. Solutions pratiques de réduction d'une contamination par les mycotoxines

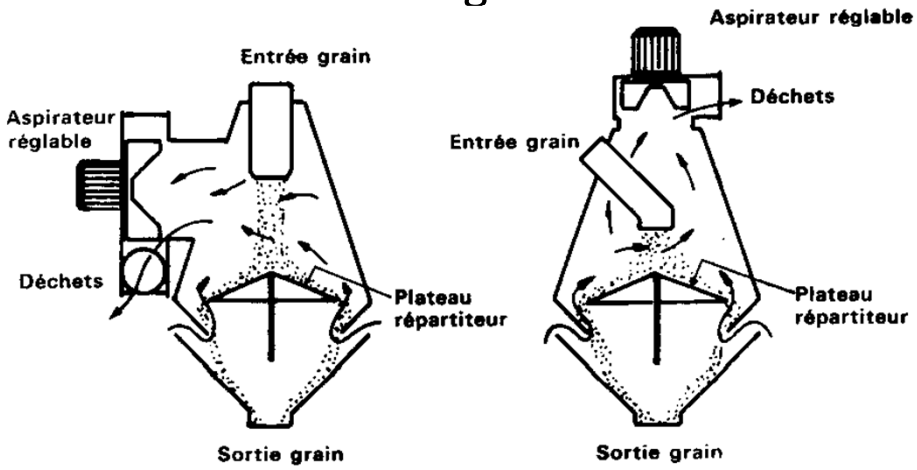


- Procédés physiques :
  - **- Nettoyage des grains**
  - **- Abrasion et pelage des grains**
  - **- Tri optique à haut débit**
  - - Traitement thermique par MO ou RF
  - - Irradiation aux rayons X ou gamma
- Procédés physico-chimiques :
  - **- Ozonation**
  - - gazage au CO_2 sous forte pression
- Détoxification chimique :
  - - Fumigation au SO_2
  - **- Application de substances naturelles antifongiques**
  - **- Utilisation de souches de µorganismes antagonistes des espèces toxinogènes ou intervenant au moment de la fermentation**

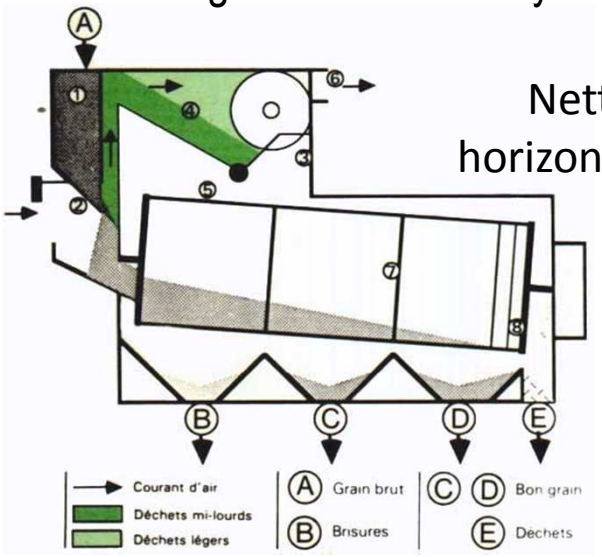
4. Solutions pratiques de réduction d'une contamination par les mycotoxines (1)

- **Nettoyage du grain** avant la mise en cellule de stockage

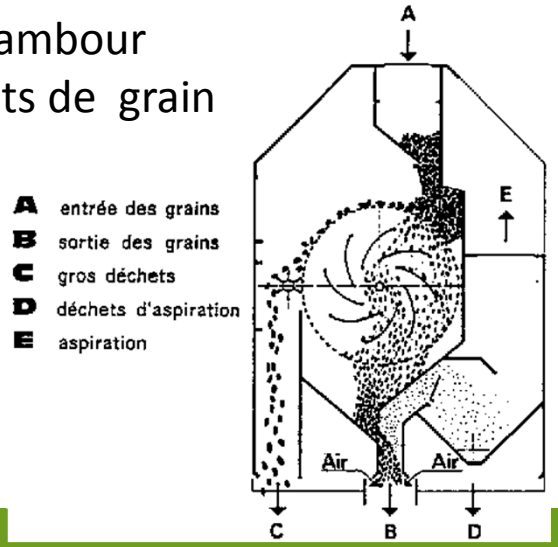
Les moisissures et la plus grande partie des mycotoxines sont concentrées dans les tissus périphériques des gains (péricarpe ou épiderme) : le nettoyage des grains réduit les teneurs en mycotoxines de 15 à 30 % selon le procédé utilisé et le débit du grain dans le nettoyeur



Pré-nettoyeur pour les flux de grain à haut débit



Nettoyeurs-séparateurs à tambour horizontal pour les faibles débits de grain



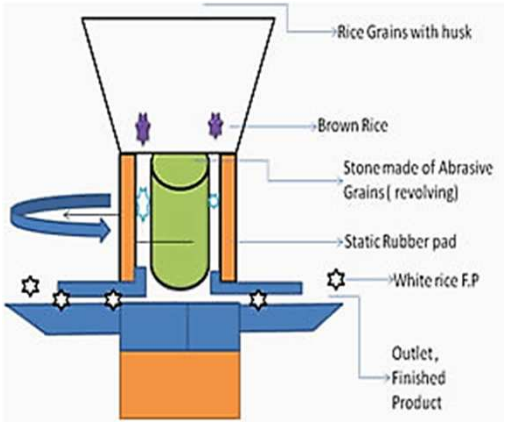
4. Solutions pratiques de réduction d'une contamination par les mycotoxines (2)

- **Traitement d'usinage des grains (pelage/abrasion = pearling ou debranning)**

Le péricarpe contient la plupart des bactéries et des moisissures contaminant les grains (Laca et al., 2006), ainsi que les mycotoxines comme le DON ou l'AFB1.
Le décorticage du grain (blé dur, blé meunier ou triticale) par abrasion réduit la teneur en DON de 45% avec seulement 10% de la masse totale de grain (le son en majorité) séparée de l'amande (Rios et al., 2009).
Environ 87% de la contamination microbienne totale est éliminée en enlevant seulement 4% de la masse des grains par le passage dans l'appareil PeriTec d'abrasion développé par Sataké Corporation (McGee, 1995, 1996).
Le niveau de contamination du riz par l'AFB1 peut être réduit de 97% par ce procédé d'usinage (Castells et al., 2007).

Machine de décorticage / dépelliculage (debranning) pour la fabrication du bulgur de blé (document Bühler)

Machine de polissage par abrasion utilisée pour l'usinage du riz qui peut être adaptée au polissage d'autres espèces de céréales pour diminuer la charge en mycotoxines



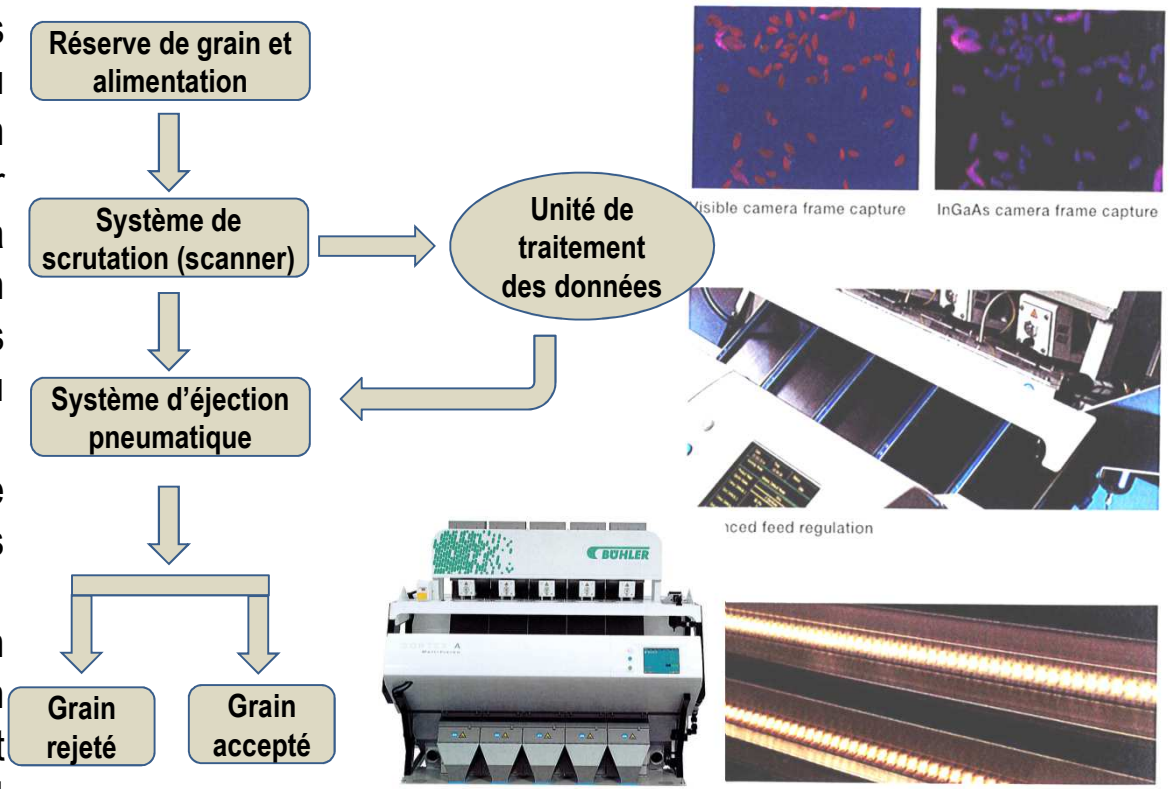
4. Solutions pratiques de réduction d'une contamination par les mycotoxines (3)

- **Machine de tri optique** (par différence de coloration)

Les machines de tri optique peuvent éliminer jusqu'à 50% des grains endommagés par des moisissures ou attaqués par des pathogènes (en culture). La masse de grain enlevée par les machines à haut débit varie de 3 à 9%. Le réduction des concentrations en DON peut aller jusqu'à 50%, mais seulement de 25 à 30 % pour l'AFB1 ou les fumonisines (Pearson et al., 2010).

Il n'y a pas de données disponibles de l'impact de ce type de tri sur les concentrations en OTA.

L'amélioration du rendement de tri, en jouant sur les longueurs d'ondes, est en cours (Yao et al., 2015; Chang-Yang et al., 2009). Ces machines de tri enlèvent 99% des sclérotes d'ergot dans le blé et le seigle ((HGCA, 2014)



Document Bühler (Sortex®)

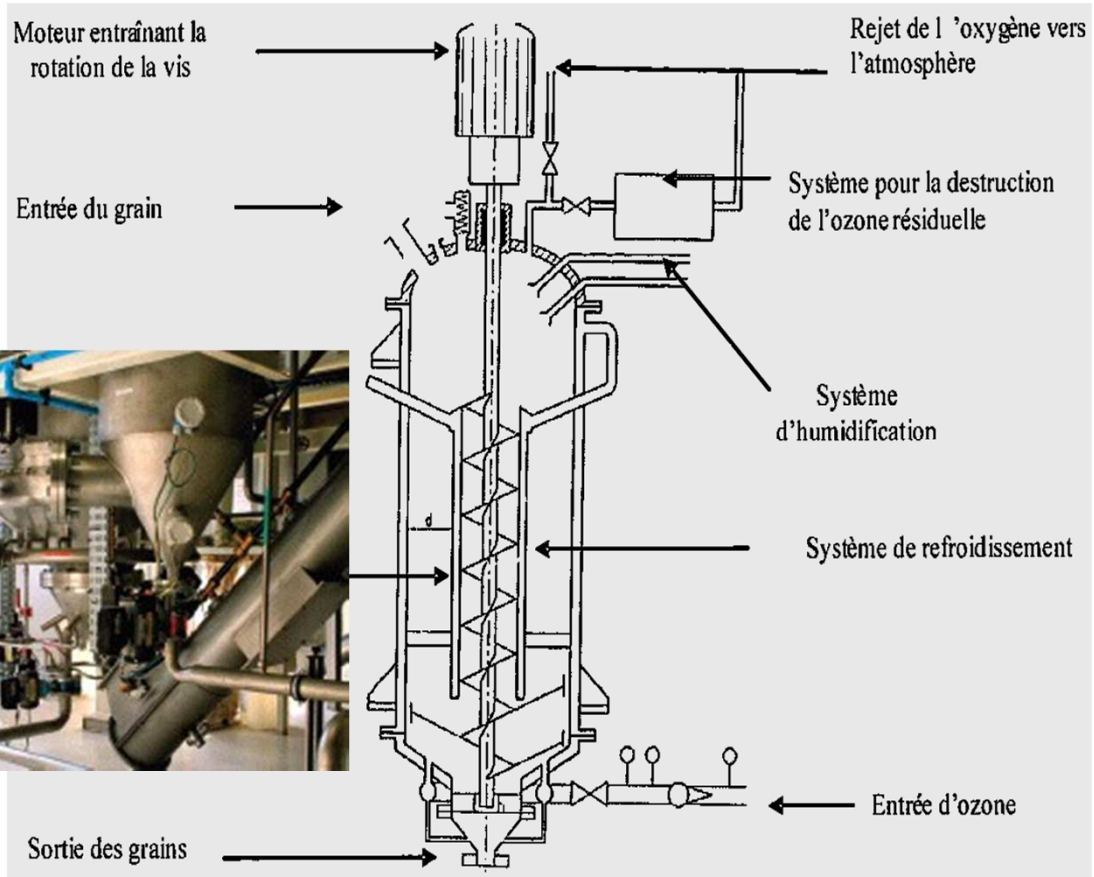
4. Solutions pratiques de réduction d'une contamination par les mycotoxines (4)

- **« Fumigation » à l'ozone** pour la décontamination des mycotoxines

Doses et effets :

Une exposition d'une heure dans 5 et 10 g d'ozone par kg de grain (blé humidifié prêt pour la mouture), induit une réduction des teneurs en DON de 50 et 65% pour le blé panifiable et de 30 et 70 % pour le blé dur (Desprès-Pernot et al., 2010). Des résultats prometteurs ont également été obtenus pour l'OTA et l'AFB1 (procédé Oxygreen®). Le traitement par l'ozone en milieu aqueux de blé contaminé par AFB1 réduit la teneur d'AFB1 de plus de 80% (Wang et al., 2010). Toutefois, le traitement à l'ozone réduit la capacité germinative des semences et induit des effets sur les propriétés rhéologiques des farines issues de blés décontaminés par ce procédé

Installation pilote de décontamination à l'ozone des grains ou des produits de transformation des céréales (procédé **Oxygreen®**)

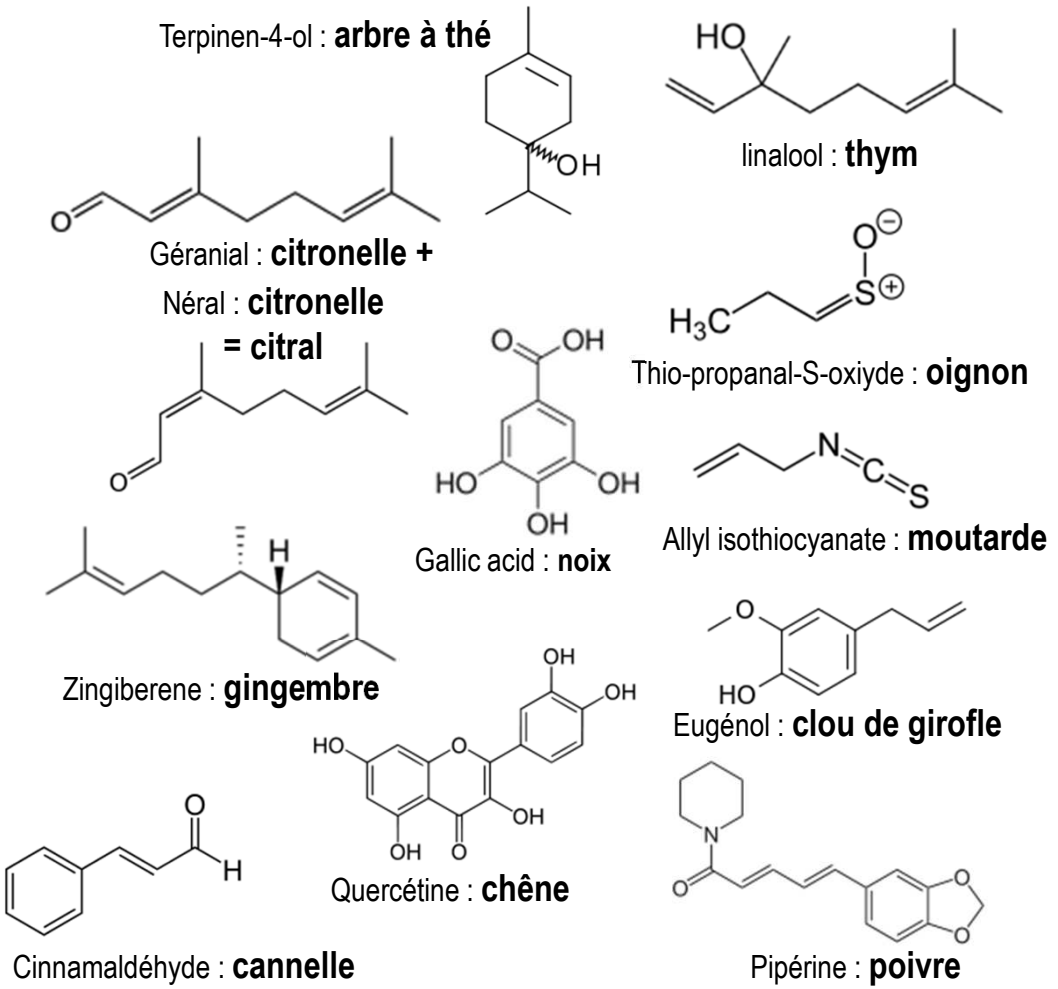


4. Solutions pratiques de réduction d'une contamination par les mycotoxines (5)

- **Molécules antifongiques extraites des plantes** (« phytofongicides »)

L'effet antifongique de certaines h.e. ou extraits de plantes a fait l'objet de très nombreuses publications scientifiques. Parmi les molécules bioactives isolées de ces extraits, on trouve des terpènes comme le citral (citronelle), l'eugénol (girofle), le cinnamaldéhyde (cannelle), le linalool (thym), le zingibérène (gingembre), ou le terpinéol (arbre à thé).

Des alcaloïdes comme la pipérine (poivre) inhibent la croissance des champignons des grains (Anjorin et al., 2013). D'autres composés inhibent la croissance et la biogenèse des mycotoxines (OTA, AFB1, FUMB1 and DON) comme l'AITC (de la moutarde) ou les composés soufrés de l'oignon (Fleurat-Lessard et al., 2015). Certains tanins ou flavones inhibent la toxinogenèse comme l'acide gallique pour *A. flavus* (Mahoney and Molyneux, 2004) et la quercétine (du chêne).

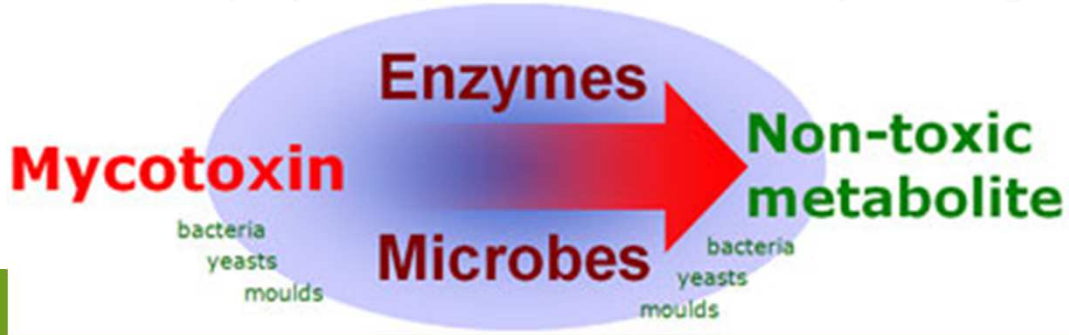


4. Solutions pratiques de réduction d'une contamination par les mycotoxines (6)

• Biocontrôle microbiologique et par les agents de fermentation

L'inactivation enzymatique des mycotoxines dans les matrices alimentaires est une voie de décontamination des produits de qualité sanitaire douteuse. Les grains humides destinés à l'ensilage or à la fermentation (*e.g.* maïs, orge de brasserie, pomme à cidre) sont détoxifiés « naturellement » au cours de la fermentation ou les mycotoxines sont converties en métabolites moins toxiques. Les microorganismes impliqués dans ces procédés de détoxification (de-époxydation, glycosylation, acétylation, estérification ou minéralisation) sont porteurs de gènes codants pour des enzymes qui peuvent être introduits dans des microorganismes participant au process de fermentation (*e.g.* levures, bactéries lactiques) (Karlovski, 2011). Certaines souches bactériennes ou de levures peuvent dégrader l'OTA pendant la phase de croissance du champignon producteur (Patharajan et al., 2011)

Les 1ères applications de la détoxification des mycotoxines par voie microbiologique a été proposée pour les mycotoxines «du champ » (DON). L'efficacité de cette voie de détoxification pour les autres mycotoxines (AFB1, OTA ou ZEA) dépendra de l'identification des enzymes adéquates.



4 – Conclusion et recherches à poursuivre

La prévention et la réduction des contaminations des grains après récolte par les moisissures de stockage et les mycotoxines associées est dépendante de l'application de mesures de prévention, du bon usage des outils de monitoring et d'actions correctives, l'ensemble intégré dans un plan d'hygiène organisé en plusieurs étapes successives :

i/ L'identification correcte des risques de moisissure (conditions du grain critiques) ;

ii/ La surveillance continue des indices et signes avant-coureurs d'une infection fongique ;

iii/ l'utilisation de méthodes rapides d'évaluation de la qualité microbiologique et de la teneur en mycotoxines des lots commerciaux ;

iv/ L'utilisation possible de procédés de détoxification selon la destination des produits.

Cette gestion intégrée des risques de moisissure et de contamination des grains par les mycotoxines « de stockage » ne pourra être appliquée avec succès que si elle est associée et accompagnée par des outils d'aide à la décision

En conséquence, la prochaine étape de recherche sera la construction d'un système expert combinant des recherches sur chaque pilier de la gestion intégrée des risques microbiologiques au stockage (par ex. avec le projet e-GrainSain).

Thèmes de recherche potentiels en GI des risques microbiologiques au stockage

1. Elaborer un **système d'aide à la décision assisté par ordinateur dédié à la gestion intégrée des risques ravageurs et microorganismes en cours de conservation des grains**, avec un **module spécifique sur la prévention des risques de moisissures**

2. Etudier les mécanismes de bioprotection des grains par application de microorganismes antagonistes des espèces de moisissures mycotoxinogènes (levures ou bactéries lactiques) prevenant le développement des espèces fongiques dangereuses (mycotoxinogènes)

3. Elaborer de nouveaux outils moléculaires de détection et d'identification des moisissures mycotoxinogènes (e.g. DNA chips), à associer au **phénotypage des souches de *Penicillium* spp productrices d'OTA** (à prospecter dans les pays du nord de l'Europe)

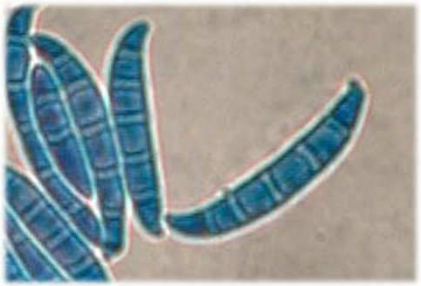
4. Continuer la recherche sur les technologies de décontamination et de détoxification susceptibles de réduire les teneurs en mycotoxines dans les céréales destinées à l'alimentation humaine ou animale (abrasion, peeling, décorticage, etc.)

5. Développer des outils de détection rapide directement utilisables "sur le terrain" (en OS) (capteurs de CO_2, nez électronique, imagerie thermique)

- Remerciements

Etudiants en Master et Post-doc impliqués sur ces sujets :
G. Cardiet (Bourgogne University) 2010
A-L Boutigny (Bordeaux University) 2011
J. Merhej (Bordeaux University) 2011
M. Bergougnoux (Toulouse University) 2013

Chercheurs de l'équipe INRA MycSA ayant collaboré à ce programme :
C. Barreau (biologiste moléculaire)
L. Pinson-Gadais (biochimie de la biogenèse des mycotoxines)
S. Chéreau (biochimie métabolique de la mycotoxinogenèse) (*qui continuera de suivre le sujet sur les mycotoxines « de stockage » à l'UR INRA MycSA de Bordeaux*)
et
G. Marchegay, **M-N. Bonin-Verdal** et **B. Fuzeau**✞,
techniciens de l'équipe INRA MycSA



Merci pour votre attention. Des questions ?