



7^{èmes} Rencontres du RMT Quasaprove

"Recherche appliquée, Formation & Transfert"

Les mycotoxines "masquées" : origine, occurrence, devenir

Vessela Atanasova-Penichon

INRA, UR 1264 Mycologie et Sécurité des Aliments

vessela.atanasova@inra.fr



Principales mycotoxines sur céréales



F. sporotrichioides *F. langsethiae* *F. acuminatum*



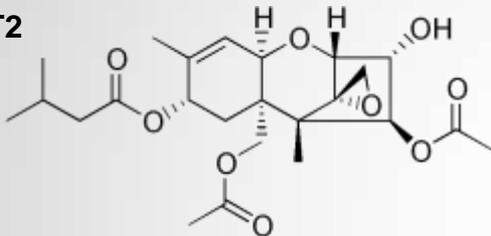
F. graminearum *F. culmorum*



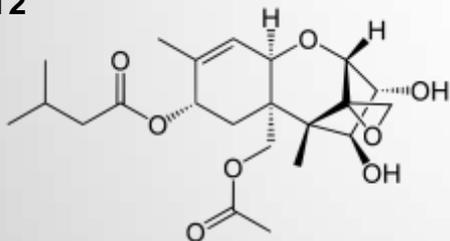
F. verticillioides
F. proliferatum

Trichothécènes de type A

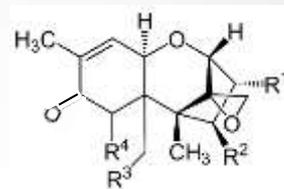
T2



HT2

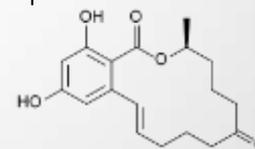


Trichothécènes de type B

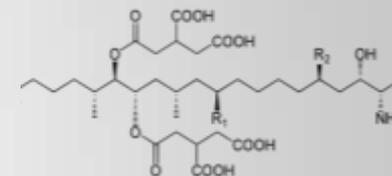


| | R1 | R2 | R3 | R4 |
|-------------------------|-----|-----|-----|----|
| Déoxynivaléno | OH | H | OH | OH |
| 3-Acetyl-déoxynivaléno | OAc | H | OH | OH |
| 15-Acetyl-déoxynivaléno | OH | H | Oac | OH |
| Nivaléno | OH | OH | OH | OH |
| Fusarénone-X | OH | OAc | OH | OH |

Zéaralénone



Fumonisines



| | R1 | R2 |
|---------------|----|----|
| Fumonisine B1 | OH | OH |
| Fumonisine B2 | H | OH |
| Fumonisine B3 | OH | H |



Principales mycotoxines sur céréales



P.verrucosum



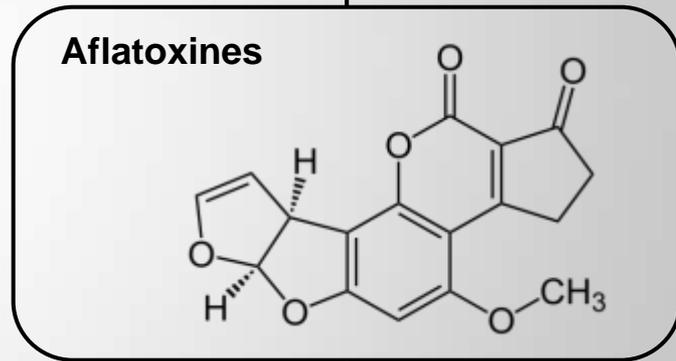
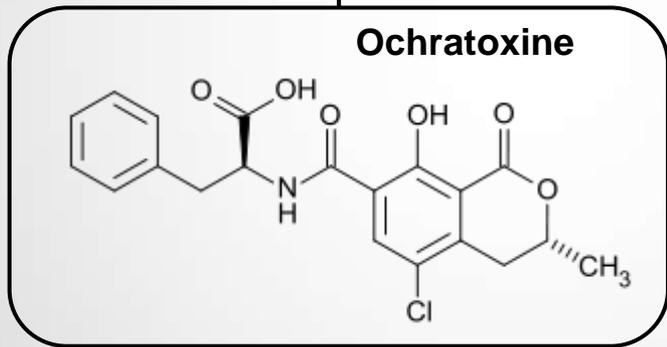
A.ochraceus



A.parasiticus



A.flavus



Les mycotoxines sur céréales : réglementation

Limites maximales réglementaires et recommandées applicables dans la filière céréalière

| | TENEURS MAXIMALES EN MYCOTOXINES, µG/KG | | | | | |
|-----------------------------|-----------------------------------------|-------|---------|----------------------------|-----|------|
| | DON | ZEA | FB1+FB2 | T2+HT2 | OTA | AFB1 |
| Alimentation humaine | | | | | | |
| Céréales brutes | 1 250 | 100 | - | 100 | 5 | 2 |
| blé dur et avoine : | 1 750 | | | Orge: 200 Avoine: 1 000 | | |
| Maïs | 1 750 | 350 | 4 000 | 200 | 5 | 2 |
| Aliment bébé | 200 | 20 | 200 | 15 | 0,5 | 0,1 |
| Alimentation animale | | | | | | |
| Céréales | 8 000 | 2 000 | - | 500 | 250 | 20 |
| | | | | Avoine: 2 000 | | |
| Maïs | 8 000 | 2 000 | 60 000 | 500 | 250 | 20 |

Valeurs en bleu : recommandation

Règlementation en cours de discussion



- Ne prend pas en compte toutes les mycotoxines (15ADON, 3ADON, NIV, ...)
- Ne prend pas en compte les mélanges de mycotoxines
- Ne prend pas en compte les mycotoxines masquées

Mycotoxine "masquée"

Terme utilisé pour désigner les mycotoxines piégées par des polymères ou qui ont subies différentes modifications de leur structure les rendant indétectables par les **méthodes d'analyses** classiques

- Terme souvent discuté car ambigu



Plusieurs auteurs ont proposé une terminologie plus précise

- Préciser le terme mycotoxine "masquée"
- Introduire le terme mycotoxine "modifiée"

(Berthiller et al., 2013; Rychlik et al., 2014)

Les mycotoxines "masquées" : terminologie

Mycotoxines "natives"

Mycotoxines modifiées non solubles (associées à une matrice)

Piégeage physique

- FB piégées par des macromolécules

Liaisons covalentes

- FB liées à l'amidon
- OTA et DON-oligosaccharides
- Esters d'acides gras des FB

Mycotoxines modifiées solubles

Biologiquement modifiées

Chimiquement modifiées

Métabolites phase 1

- Oxydation
- Réduction
- Hydrolyse

- α -ZEL
- β -ZEL

Métabolites phase 2

- **Mycotoxines "masquées"**
- Animaux
- Champignon

- DON3G
- DON-3/15-sulfates
- DON-glutathione
- NIVG
- ZENG
- ZEN-sulfate

Thermo-formées

- norDON A-C
- 14-(R) OTA
- N-carboxymethyl-FB1

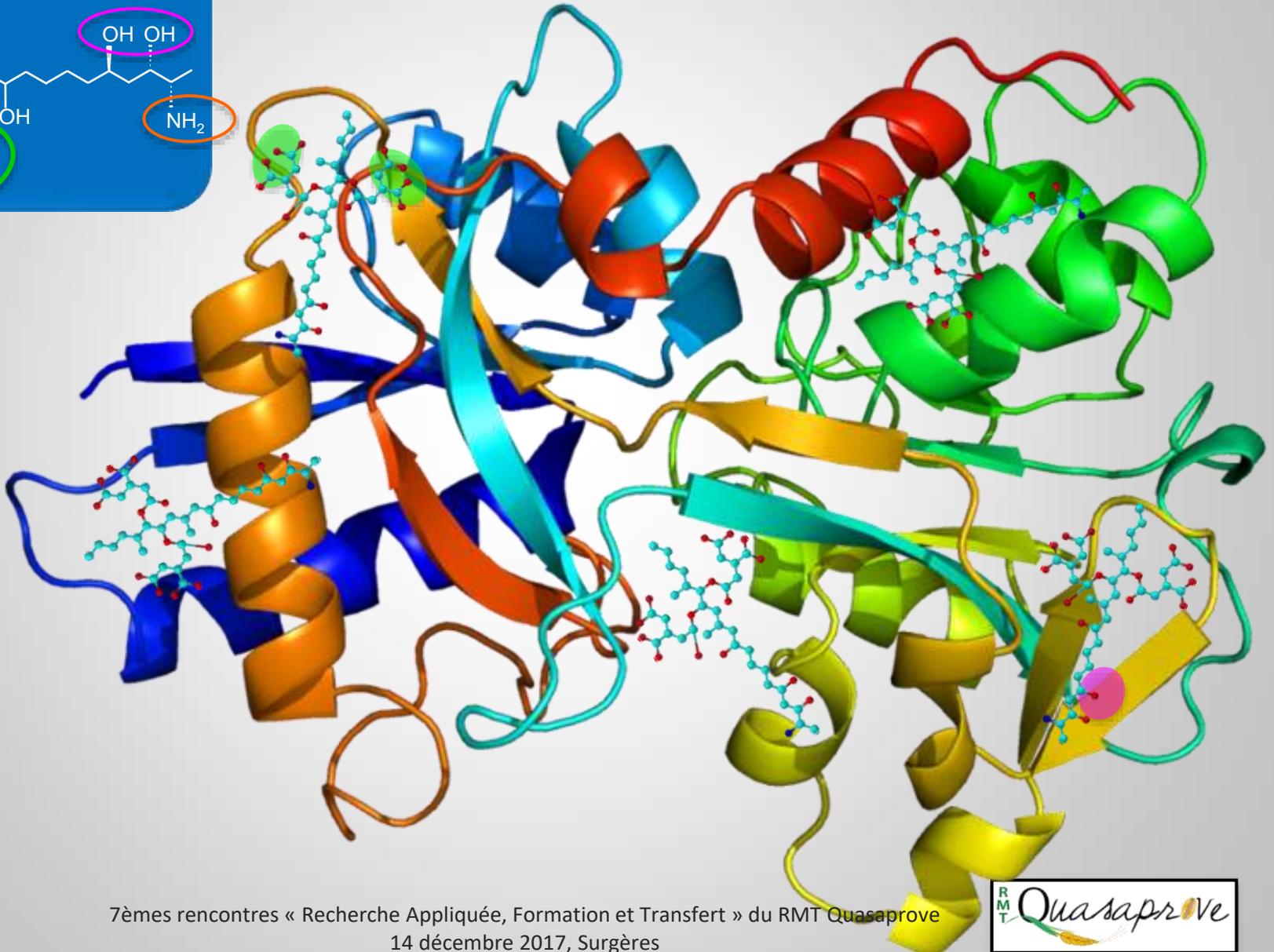
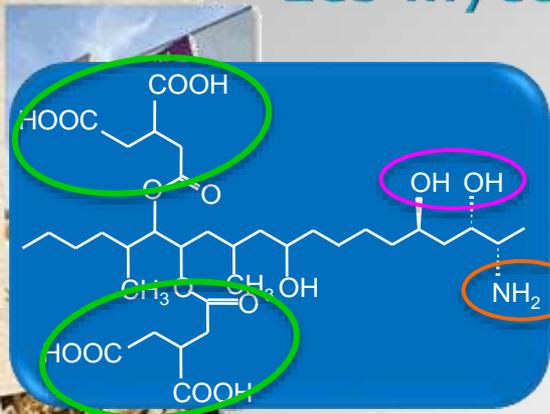
Non thermo-formées

- norDON A-C
- DON-sulfonate

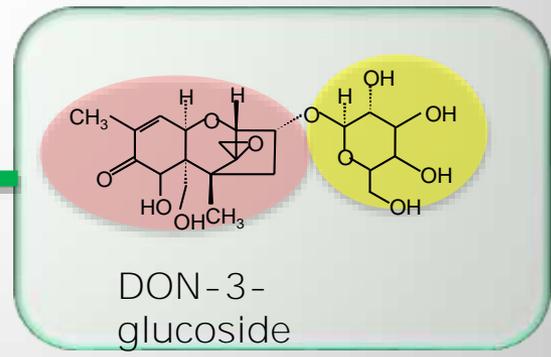
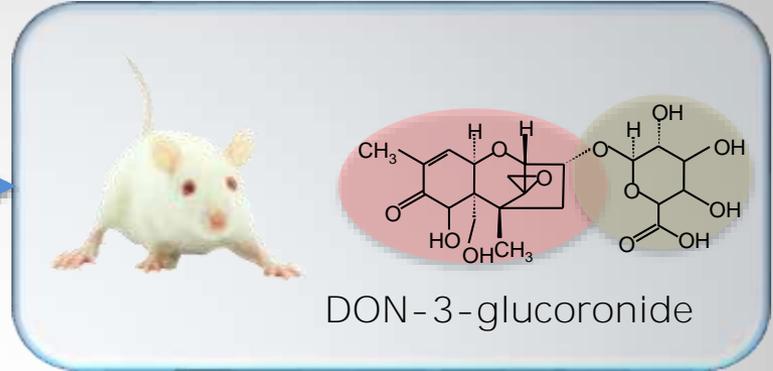
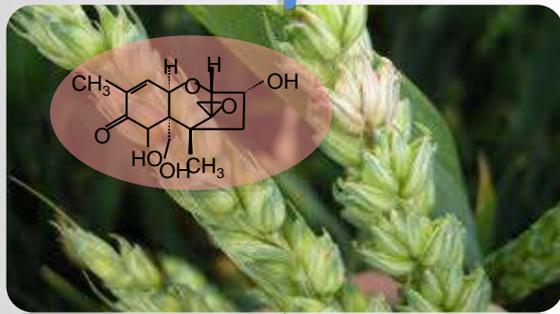
(Berthiller et al., 2013; Rychlik et al., 2014)

(EFSA - Autorité européenne de sécurité des aliments)

—Les mycotoxines "modifiées" non solubles : exemple FB

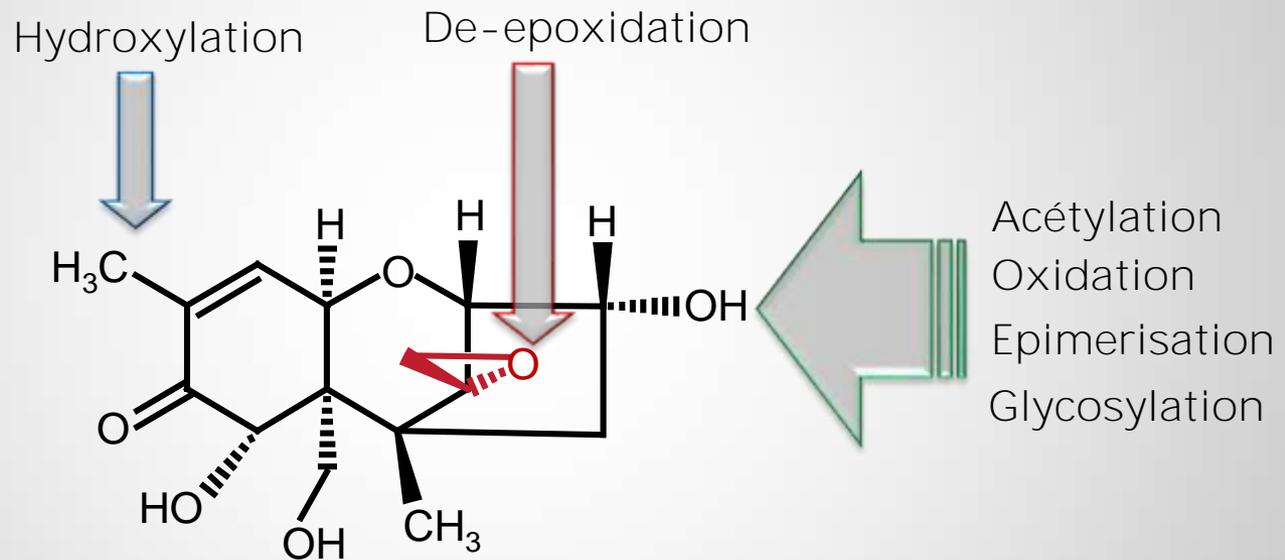


Les mycotoxines "modifiées" solubles: exemple DON



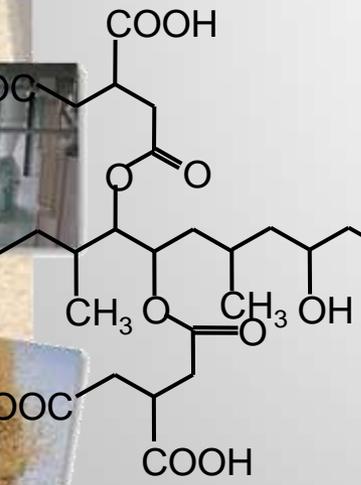
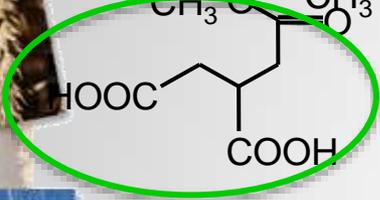
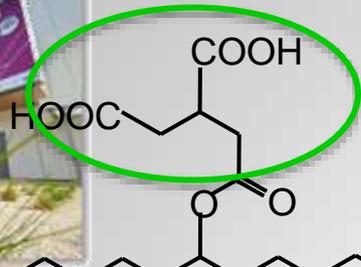
Les mycotoxines "modifiées" solubles: exemple DON

Réactions de "modification" du DON

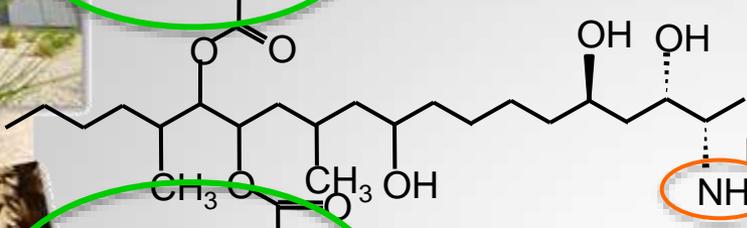


(Karlovsky, 2011)

Les mycotoxines "modifiées" : exemple avec FB1

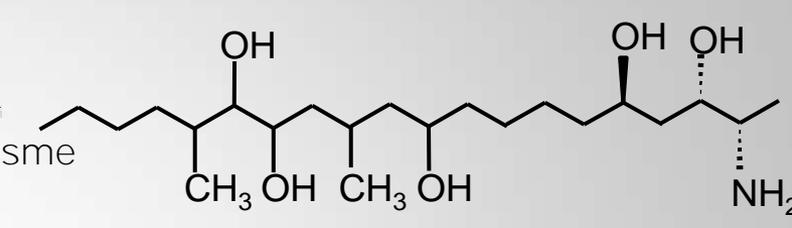


N-carboxymethylFB1 (NCM-FB1)



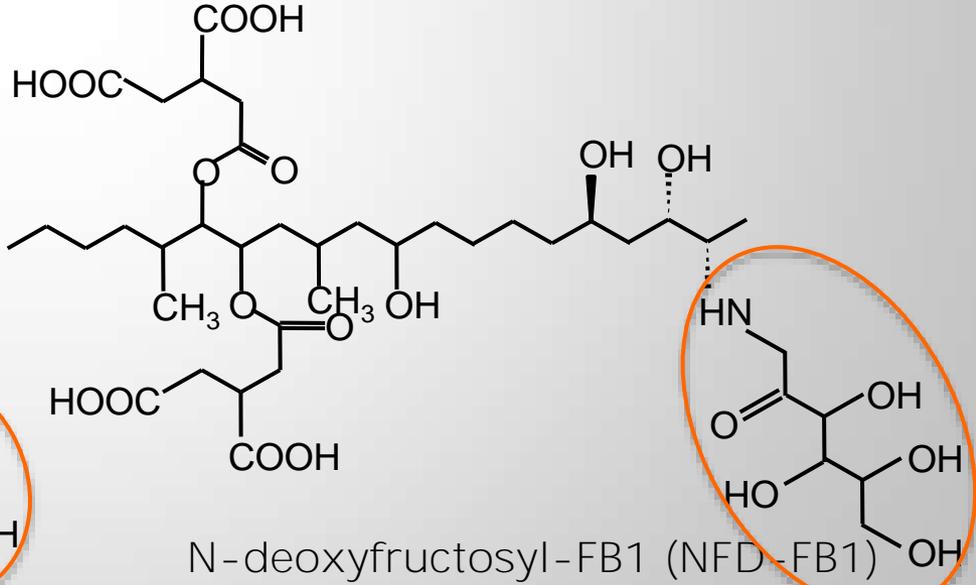
FB1

Traitement alcalin
Microorganisme



HFB1

Traitement thermique
Réaction de Maillard



N-deoxyfructosyl-FB1 (NDF-FB1)

(EFSA, 2014)



Occurrence des mycotoxines "natives" et "modifiées"

Occurrence de la zéaralénone et des trichothécènes et de leurs formes "modifiées" dans les céréales (blé, maïs, orge, avoine et riz issus de 11 pays, 13 études, 2010-2014)

| Mycotoxines | Nombres d'échantillons | Incidence, % | Moyenne, µg/kg | Teneur maximale, µg/kg |
|--------------|------------------------|--------------|----------------|------------------------|
| DON | 5 743 | 84 | 458 | 27 088 |
| DON3G | 529 | 55 | 85 | 1 070 |
| T-2 | 321 | 45 | 16,7 | 377 |
| HT-2 | 321 | 54 | 61 | 834 |
| T-2G | 15 | 73 | 2,4 | 11 |
| HT-2G | 15 | 80 | 5,1 | 15 |

Valeurs en gris : indicatives

— Mycotoxine native

— Mycotoxine modifiée

(Broekaert et al., 2015)

- Les teneurs en mycotoxines modifiées sont moins importantes par rapport aux mycotoxines natives.

— Occurrence des mycotoxines "natives" et "modifiées"

Occurrence de la zéaralénone et des trichothécènes et de leurs formes "modifiées" dans les céréales (blé, maïs, orge, avoine et riz issus de 11 pays, 13 études, 2010-2014)



| Mycotoxines | Nombres d'échantillons | Incidence, % | Moyenne, µg/kg | Teneur maximale, µg/kg |
|-------------|------------------------|--------------|----------------|------------------------|
| ZEN | 2 158 | 12 | 39,6 | 2 044 |
| α-ZEL | 175 | 23 | 22,7 | 262 |
| β-ZEL | 175 | 12 | 10 | 103 |
| ZEN14G | 36 | 25 | 37 | 274 |
| ZEN14S | 12 | 25 | 6 | 51 |
| α-ZEL14G | 15 | 8 | 23,5 | 283 |
| β-ZEL14G | 15 | 25 | 38 | 193 |

Valeurs en gris : indicatives

— Mycotoxine native

— Mycotoxine modifiée

(Broekaert et al., 2015)

- Les teneurs en ZEN14G et β-ZEL14G sont proches de celles de la ZEN.

Occurrence des mycotoxines "natives" et "modifiées"

Proportion des mycotoxines "modifiées" par rapport à leur mycotoxine "native", présentes dans des matières premières naturellement contaminées

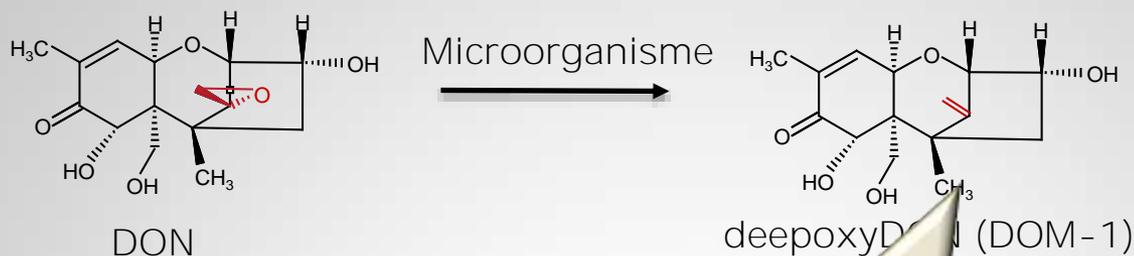
| Matière première | Mycotoxines "modifiées" | Nombre d'échantillons | Proportion de mycotoxine "modifiée"/"native", % | Références |
|-------------------|------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| Blé, Maïs | ZEN3G | | 20% | Berthiller et al., 2009 |
| Céréales | DON3G | | | Desmarchelier et Seefelder, 2011 |
| Maïs, blé, avoine | ZEN | | | De Boevre et al., 2012 |
| Maïs | ZEN | | | Streit et al., 2013 |
| Blé | ZEN14G | | % | Scheneweis et al., 2002 |
| Blé | T-2G, HT-2G | | Jusqu'à | Lattanzio et al., 2012 |
| Avoine | T-2G, HT-2G | | 2% | Lattanzio et al., 2012 |
| Maïs | Fumonisines associées à la matrice | 51 97 120 | Jusqu'à 100% Jusqu'à 60% Jusqu'à 60% | Dall'Asta et al., 2010 Dall'Asta et al., 2010 Dall'Asta et al., 2012 |

Mycotoxines "modifiées" \leq Mycotoxines "natives"

(Pierron *et al.*, 2016)

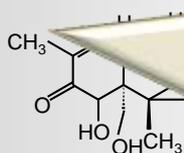
Mycotoxines "modifiées" : toxicité

- DOM-1 : Etudes *in vivo* (souris) (Eriksen et Pettersson, 2004)



DOM-1 est 54 fois moins toxique que le DON au niveau de la **synthèse d'ADN** sur des fibroblastes de souris.

- DON3G : Etudes *ex vivo* (fibroblastes) et *in vivo* (souris) (Wu et al., 2016; Wu et al., 2014)



Mycotoxines "modifiées" < Mycotoxines "natives"

- α -ZEL et β -ZEL

Oestrogénicité : α -ZEL < ZEN < β -ZEL (Mukherjee et al., 2014)

Cytotoxicité (cellules endométriales de porc) : α -ZEL < β -ZEL (Tiemann et al., 2003; Othmen et al., 2008)

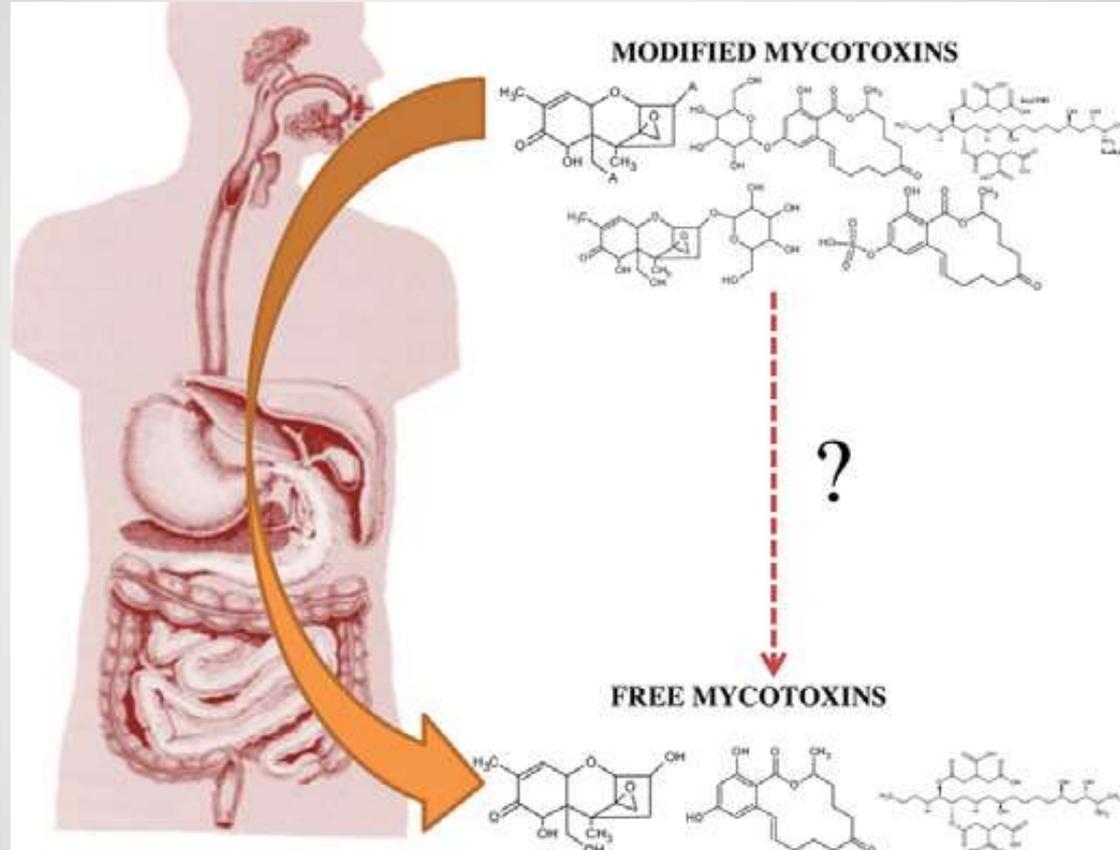
Toxicité (oocytes de porc) : α -ZEL > β -ZEL (Alm et al., 2002)

➡ Hiérarchie dans la toxicité de α -ZEL et β -ZEL pas bien établie : dépend du type cellulaire considéré

- ZEN14G et ZEN14S (Poppenberger et al., 2006; Berthiller et al., 2009)

Les formes glucosylée et sulfatée de la ZEN semblent incapables de se lier aux récepteurs oestrogéniques **et d'induire une toxicité *in vitro***.

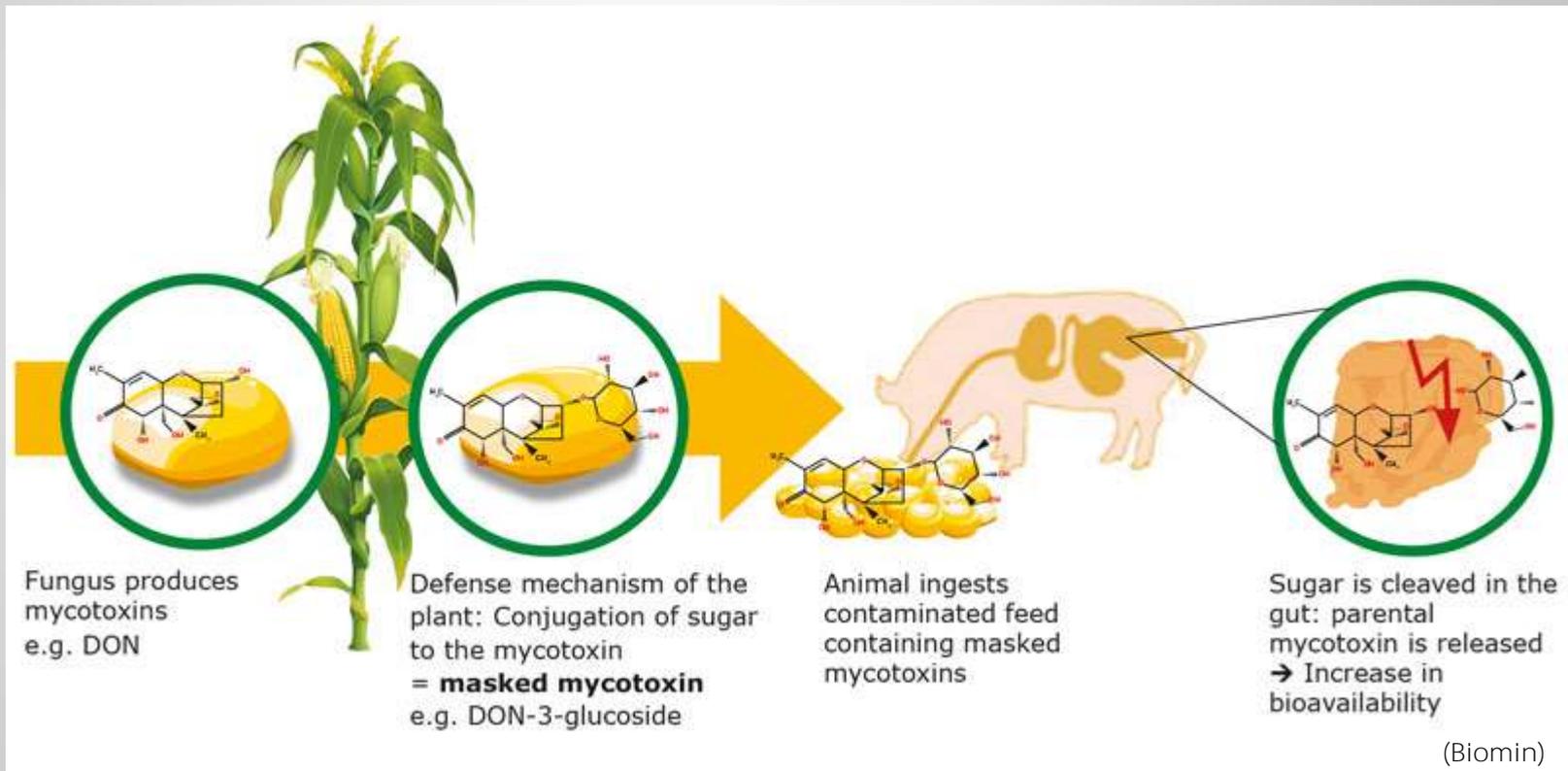
Mycotoxines "modifiées" : métabolisation



(Boevre et al., 2015)

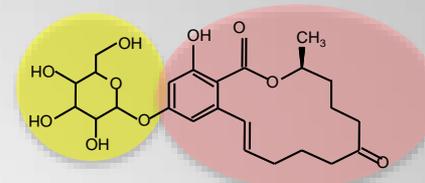
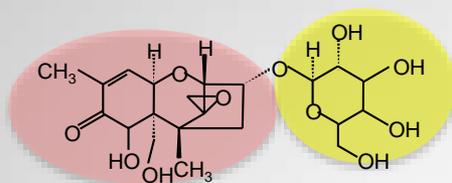
Mycotoxines "modifiées" : métabolisation

Schéma de formation du DON3G chez la plante et libération de la mycotoxine native dans **l'intestin** des mammifères

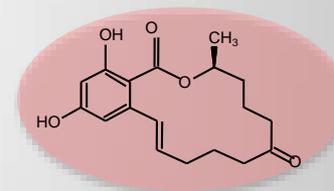
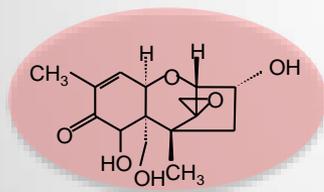


Mycotoxines "modifiées" : métabolisation

Mycotoxines "modifiées"



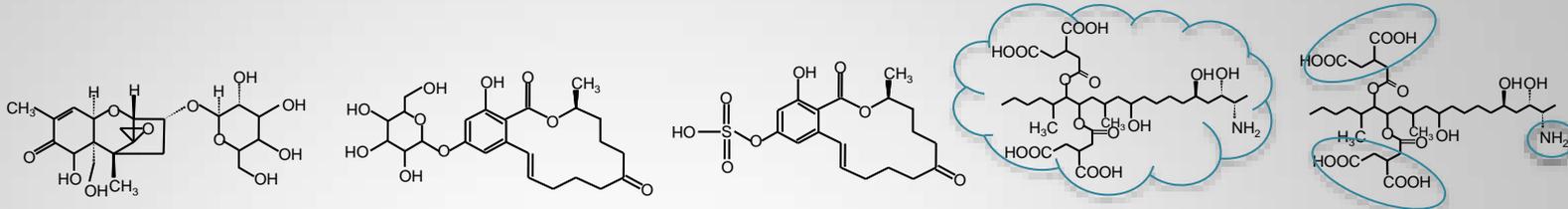
Libération gastro-intestinale
des mycotoxines natives



- Comme le DON3G, les formes modifiées de la ZEN peuvent être déconjuguées après fermentation fécale par le microbiote humain, et la forme native ZEN relarguée dans la lumière intestinale.

Mycotoxines "modifiées" : métabolisation

Devenir de certaines mycotoxines "modifiées" le long du tractus digestif



| Compartiment | DON3G* | ZEN14G* | ZEN14S** | Fumosinines cachées** | Fumonisines liées** |
|----------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------|---------------------|
| Salive | Stable | Stable | Stable | Stable | Stable |
| Estomac | Stable | Max. 19% ZEN | Stable | Stable | Stable |
| Intestin grêle | Max. 5% DON3G détecté | Traces de ZEN14G détectées | Stable | Stable | Stable |
| Colon | Max. 2% DON3G détecté Fèces : DON+DOM-1 | Fèces : 40% ZEN Fèces : 60% catabolites | Fèces : 40% ZEN Fèces : 60% catabolites | Max. 99% FB | Stable |

* Expérimentations *in vitro* et *in vivo*

** Expérimentations *in vivo*

(Boevre et al., 2015)

Certaines mycotoxines "modifiées" peuvent être transformées en leur formes "natives" dans des proportions variables. Cette transformation serait principalement due au microbiote intestinal.

Mycotoxines et leurs formes "modifiées" :

caractérisation du risque

Estimation d'exposition maximale de l'homme à certaines mycotoxines (natives + modifiées)

| Catégorie d'âge | ZEN (100%) | NIV(30%) | T2+HT2 (10%) | FB (60%) |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------|--------------|----------|
| Niveau d'exposition moyenne, ng (μg pour FB)/kg poids corporel/jour | | | | |
| Bébé | 176* | 182 | 18 | 1.01 |
| Enfant | 200 | 263 | 47 | 2.63 |
| Adolescent | 84 | 104 | 26 | 1.66 |
| Adulte | 58 | 98 | 20 | 1.01 |
| Niveau d'exposition des forts consommateurs (P95), ng (μg pour FB)/kg poids corporel/jour | | | | |
| Bébé | 434** | 506 | 56 | 3.19 |
| Enfant | 554 | 630 | 100 | 5.21 |
| Adolescent | 152 | 192 | 52 | 3.50 |
| Adulte | 108 | 291 | 43 | 2.01 |

% - Accroissement de l'exposition en une mycotoxine donnée qui résulterait de la conversion de la mycotoxine modifiée en mycotoxine native
Résultats basés sur deux enquêtes diététiques **Résultats basés sur une enquête diététique

- Variation relativement élevée entre les estimations de l'exposition dans les pays européens.
- L'exposition chronique aux mycotoxines varie considérablement entre les catégories d'âge. Elle est la plus élevée chez les jeunes consommateurs.
- Un avis sur le DON et ses formes modifiées est en cours.

Mycotoxines et leurs formes "modifiées" : caractérisation du risque

- ZEN - Dose journalière tolérable (DJT) : 250 ng/kg poids corporel/jour

Certaines valeurs maximales d'exposition > DJT



Problème préoccupant

- NIV - Dose journalière tolérable : 1000 ng/kg p.c./j

Certaines valeurs maximales d'exposition > DJT

Résultats à prendre avec précaution :

L'exposition à ces mycotoxines est considérée comme préoccupante

- Enquête alimentaire
- Nombre d'échantillons
- Méthodes analytiques,...

- T2+HT2 - Dose journalière tolérable : 1000 ng/kg p.c./j

L'exposition au T2+HT2 est considérée comme préoccupante

- FBs - Dose journalière maximale tolérable provisoire : 2 µg/kg p.c./j

Valeurs maximales d'exposition ~ DJMTP



L'exposition aux FBs et leurs formes modifiées peut être préoccupante, surtout pour les enfants

(EFSA, 2014)



- Exposition totale aux mycotoxines sous-estimée
- Prendre en compte toutes les formes pour évaluer le risque lié aux mycotoxines

Merci de votre attention

myco tox

<https://journes.inra.fr/mycotoxines-2018>
journes-mycotoxines-2018@inra.fr

7^{èmes} Journées Mycotoxines 2018

18-19 janvier
BORDEAUX



CONFÉRENCE INTRODUCTIVE DE **PAOLA BATTILANI**
L'IMPACT DU CHANGEMENT CLIMATIQUE SUR
LES MYCOTOXINES EN EUROPE