



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

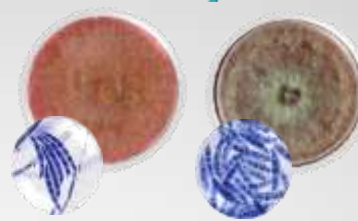
vessela.atanasova@inra.fr



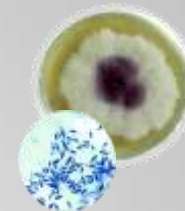
Principales mycotoxines sur céréales



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



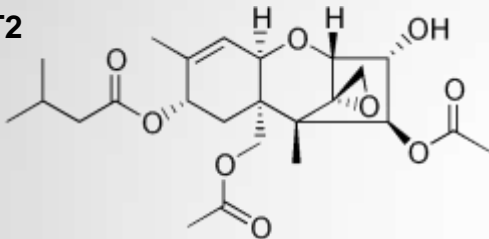
F. graminearum *F. culmorum*



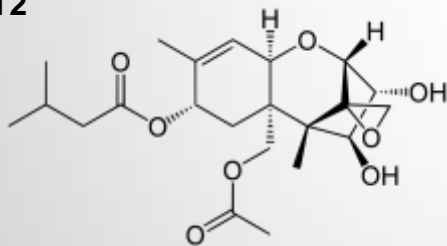
F. verticillioides
F. proliferatum

Trichothécènes de type A

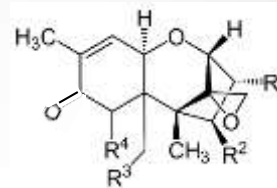
T2



HT2

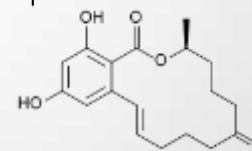


Trichothécènes de type B

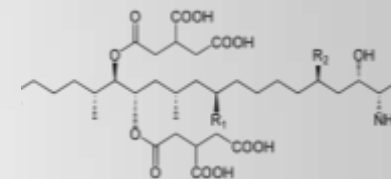


	R1	R2	R3	R4
Déoxynivaléno	OH	H	OH	OH
3-Acetyl-déoxynivaléno	OAc	H	OH	OH
15-Acetyl-déoxynivaléno	OH	H	Oac	OH
Nivaléno	OH	OH	OH	OH
Fusarénone-X	OH	OAc	OH	OH

Zéaralénone



Fumonisines



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



Principales mycotoxines sur céréales



P.verrucosum



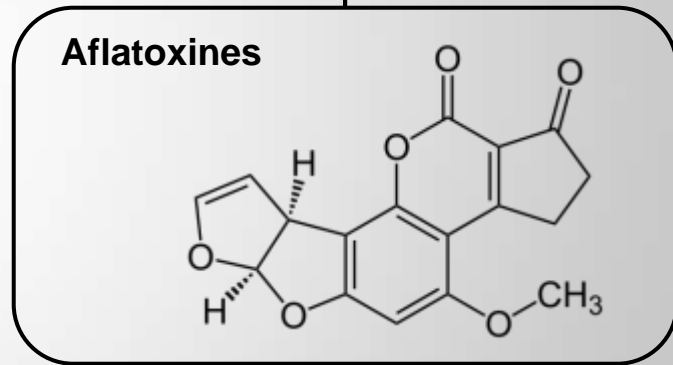
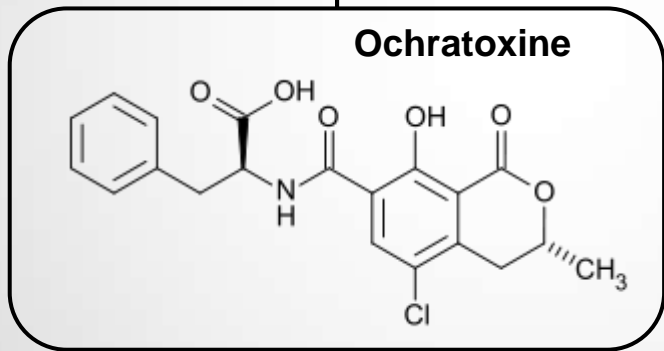
A.ochraceus



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 :				Orge: 200		
	1 750			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

- Oxydation
 - Conjugation
- 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

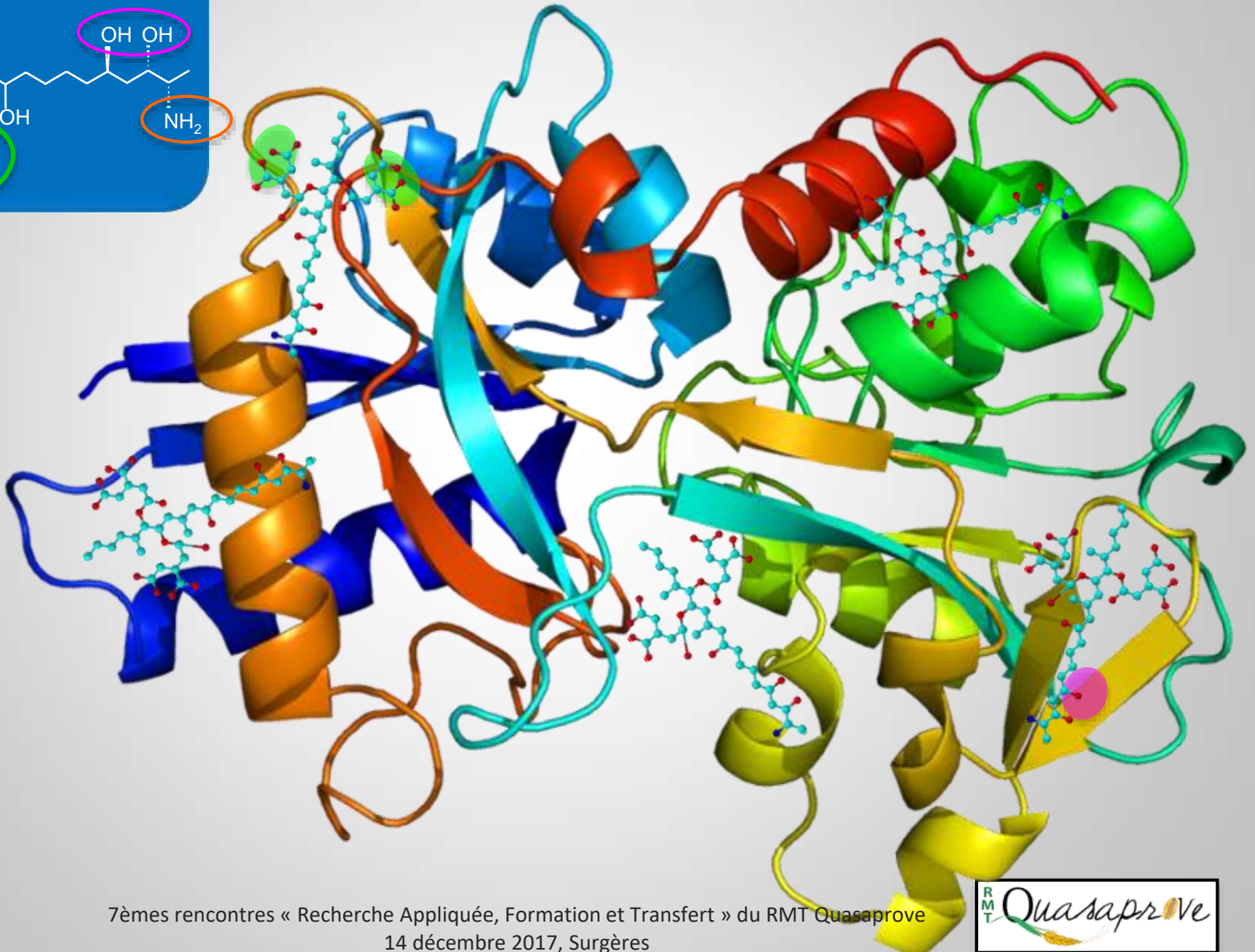
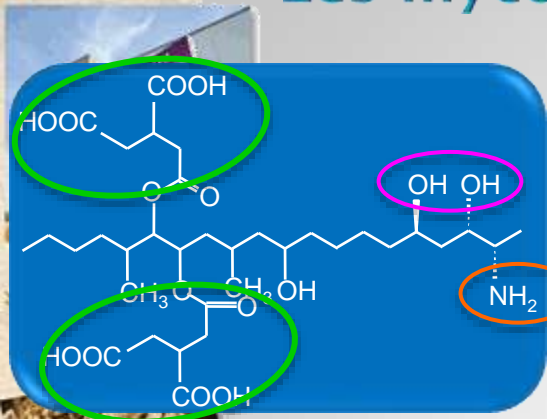
Non thermo-formées

- norDON A-C
- DON-sulfonate

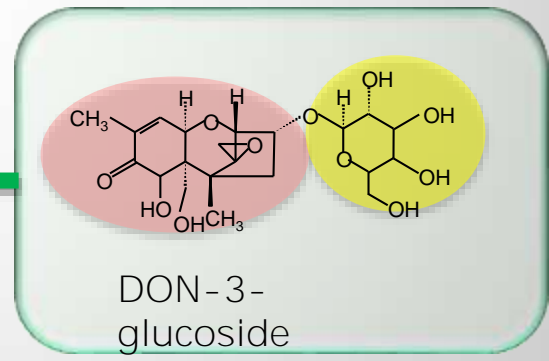
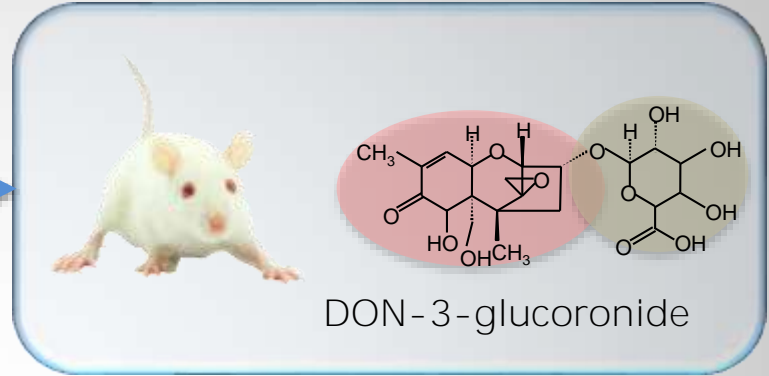
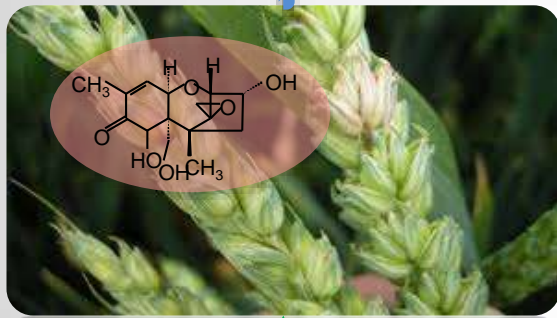
(Berthiller et al., 2013; Rychlik et al., 2014)

(EFSA - Autorité européenne de sécurité des aliments)

—Les mycotoxines "modifiées" non solubles : exemple FB

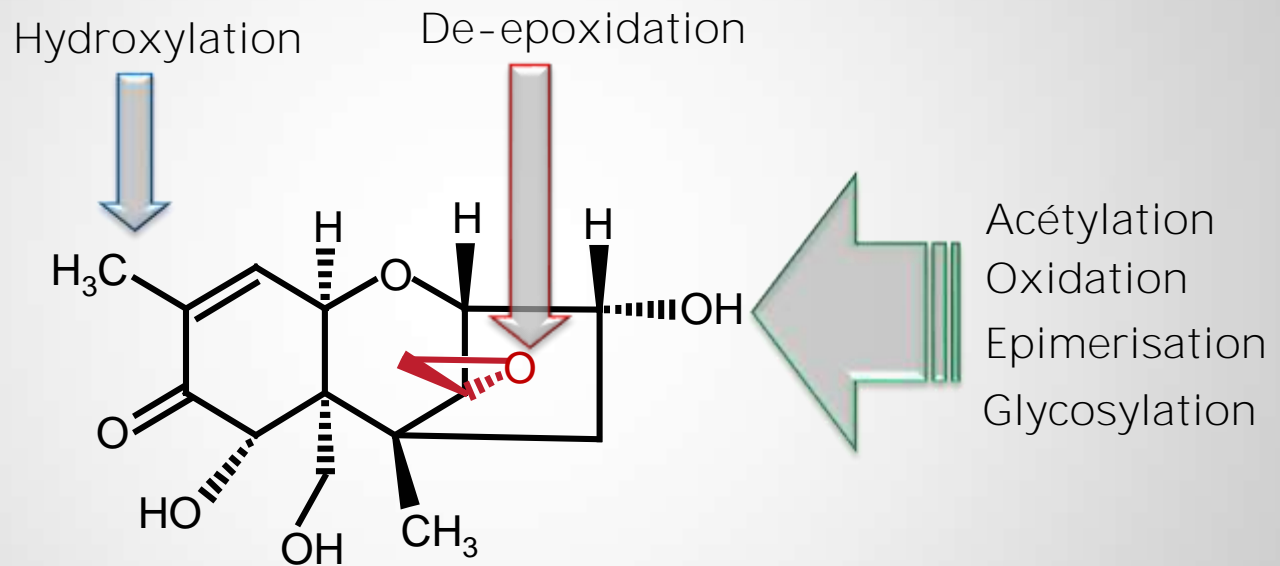


Les mycotoxines "modifiées" solubles: exemple DON



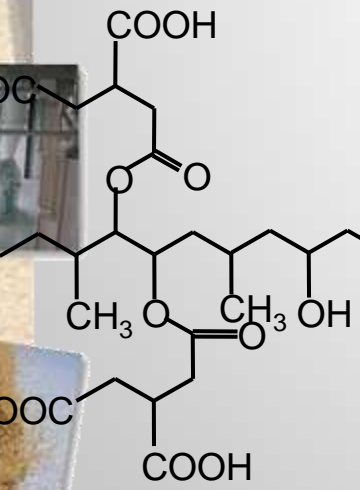
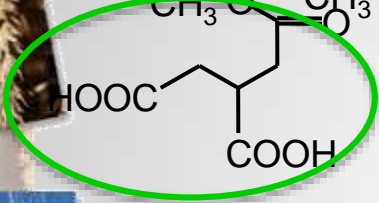
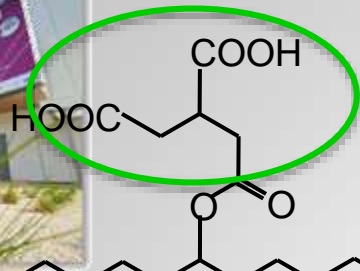
Les mycotoxines "modifiées" solubles: exemple DON

Réactions de "modification" du DON

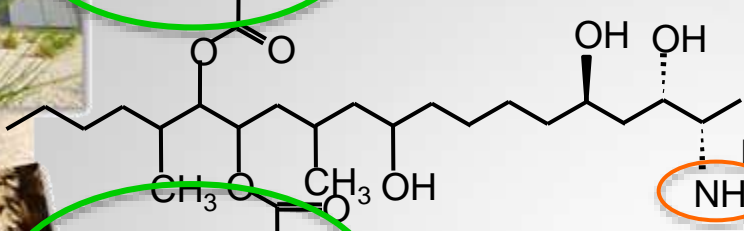


(Karlovsky, 2011)

Les mycotoxines "modifiées" : exemple avec FB1

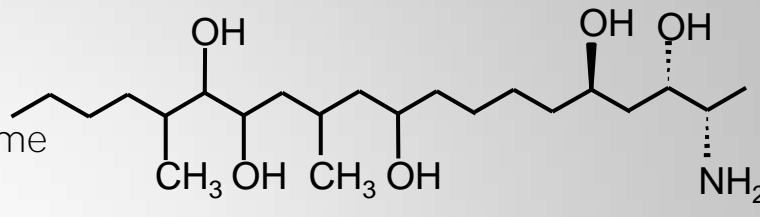
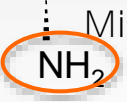


N-carboxymethylFB1 (NCM-FB1)



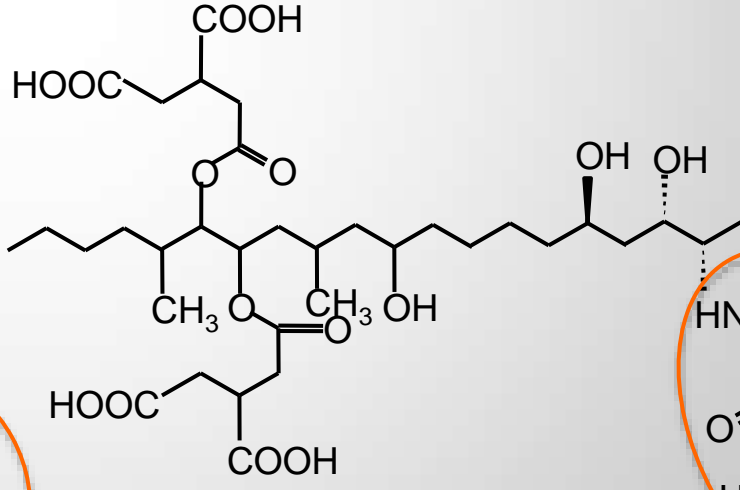
FB1

Traitement alcalin
Microorganisme

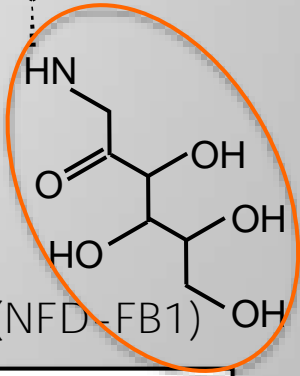


HFB1

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)

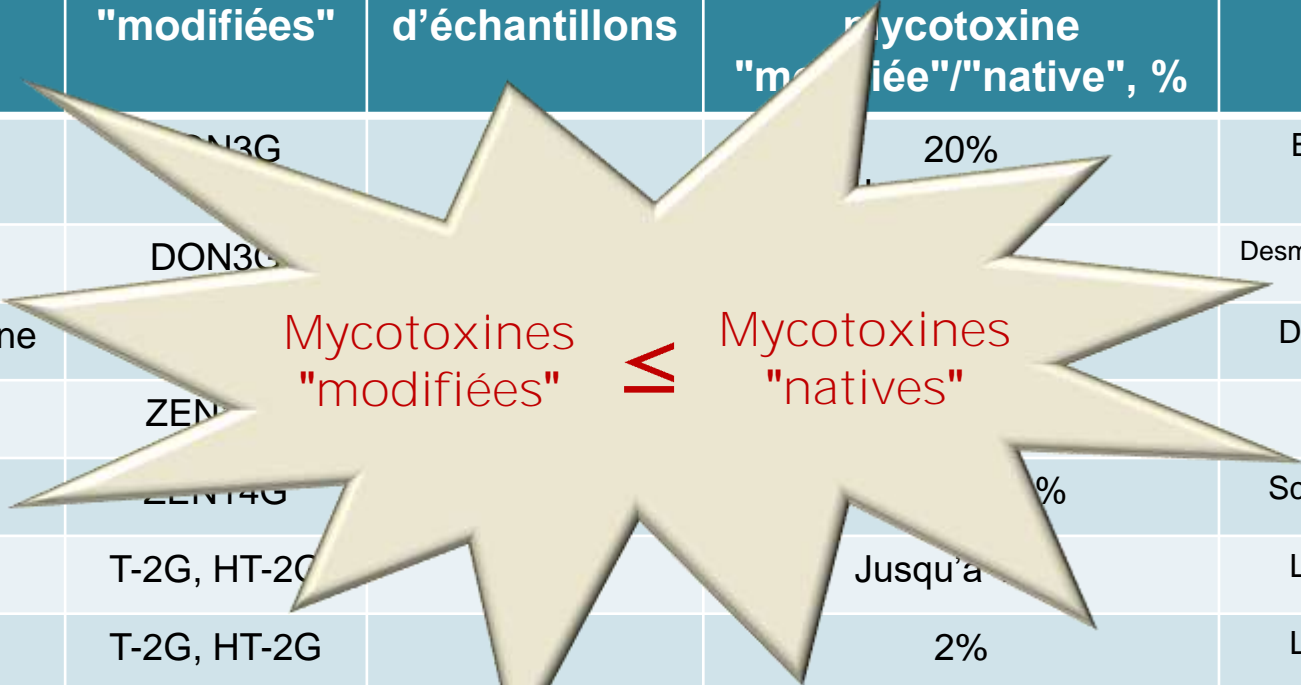
- Les teneurs en ZEN14G et β -ZEL14G sont proches de celles de la ZEN.

— Occurrence des mycotoxines "natives" et "modifiées"

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



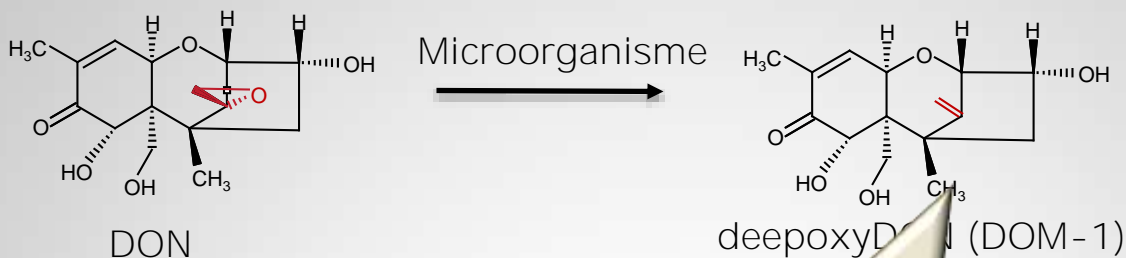
Matière première	Mycotoxines "modifiées"	Nombre d'échantillons	Proportion de mycotoxine "modifiée"/"native", %	Références
Blé, Maïs	ZEN3G		20%	Berthiller et al., 2009
Céréales	DON3G			Desmarchelier et Seefelder, 2011
Maïs, blé, avoine				De Boevre et al., 2012
Maïs	ZEN			Streit et al., 2013
Blé	ZEN14G		%	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



(Pierron *et al.*, 2016)

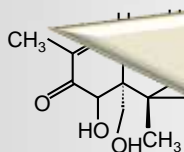
Mycotoxines "modifiées" : toxicité

- 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)

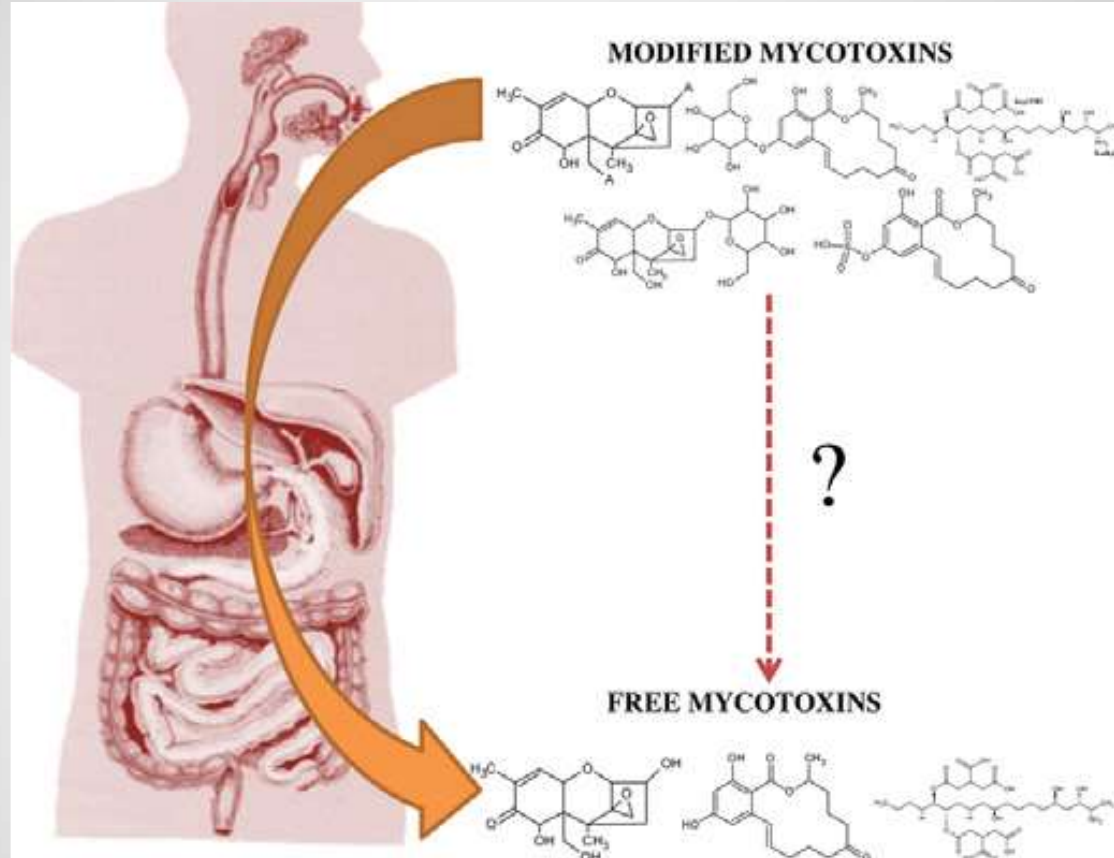
Toxicité (oocytes de porc) : α -ZEL > β -ZEL (Alm et al., 2002)

➡ 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***.

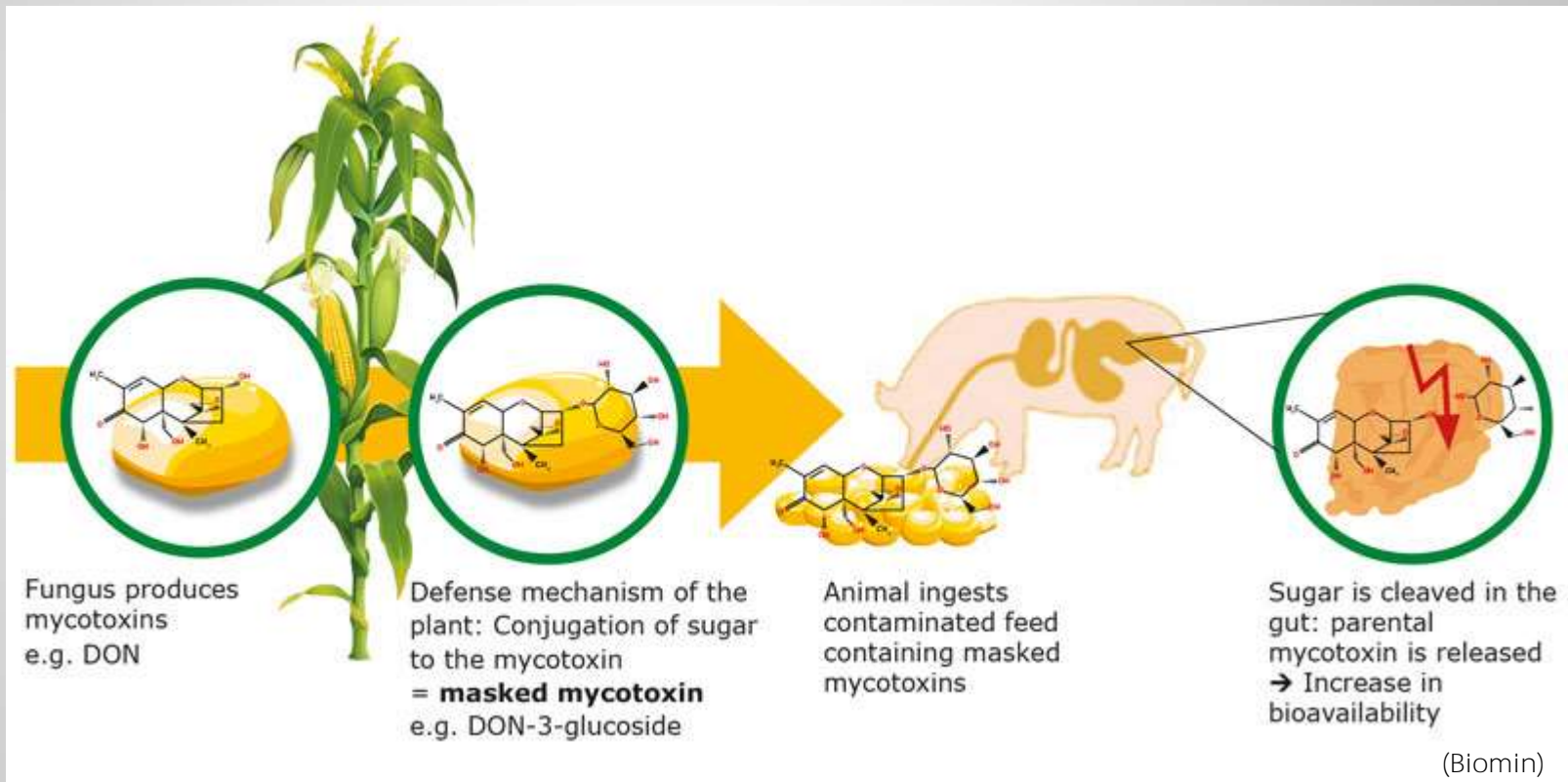
Mycotoxines "modifiées" : métabolisation



(Boevre et al., 2015)

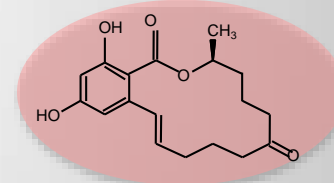
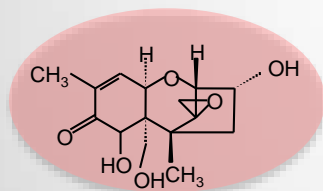
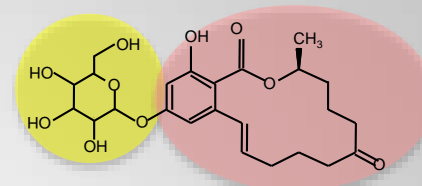
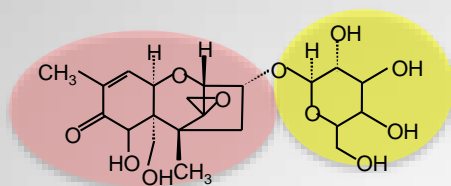
Mycotoxines "modifiées" : métabolisation

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



Mycotoxines "modifiées" : métabolisation

Mycotoxines "modifiées"

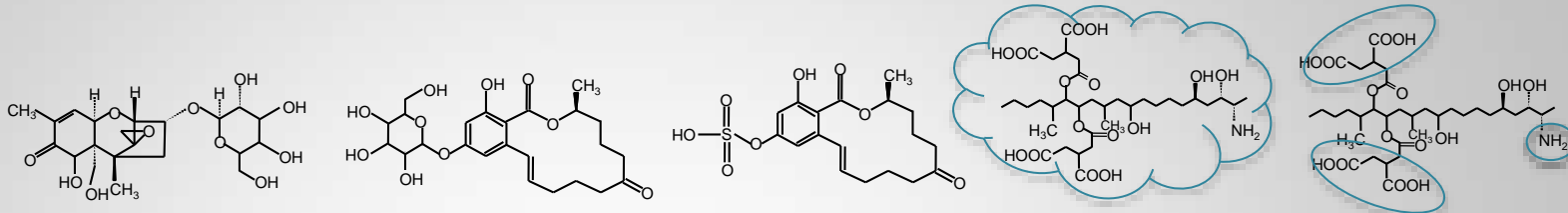


Libération gastro-intestinale
des mycotoxines natives

- 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)



Mycotoxines
"modifiées"

Teneurs dans
les céréales

\leq

Toxicité

$<$



Mycotoxines
"natives"

Les effets toxiques observés sont dus aux mycotoxines "natives"

**Hydrolyse au niveau de l'intestin ou
lors des procédés de transformation !!!**

- 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://journées.inra.fr/mycotoxines-2018>
journées-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