



Aspergillus flavus et autres moisissures productrices d'aflatoxines

Sous-règne : Ascomycètes
Classe : Eurotiomycètes
Ordre : Eurotiales
Famille : Trichocomaceae

L'aflatoxine B₁ (AFB₁), est considérée comme l'un des plus puissants cancérigènes génotoxiques naturels. Son organe cible est le foie.

Aspergillus flavus est la principale espèce productrice d'aflatoxines (uniquement du groupe B). *A. parasiticus* et *A. nomius* produisent en plus des aflatoxines du groupe G, mais ces autres champignons microscopiques (moisissures) ne sont rencontrés que très rarement dans les aliments.

Les aflatoxines sont des molécules de faible poids moléculaire. L'AFB₁ (C₁₇H₁₂O₆) et l'AFB₂ (C₁₇H₁₄O₆), de masses molaires respectives 312 et 314 g/mol, sont fluorescentes de couleur bleue sous lumière UV. L'AFG₁ (C₁₇H₁₂O₇) et l'AFG₂ (C₁₇H₁₄O₇), de masses molaires respectives 328 et 330 g/mol, sont fluorescentes de couleur verte.

L'AFB₁, absorbée par une vache laitière ou par d'autres mammifères ruminants (p. ex. chèvres, moutons, bufflonnes, chameaux), est partiellement métabolisée puis excrétée dans le lait sous forme d'AFM₁ (C₁₇H₁₂O₇). Sa masse molaire est de 328 g/mol, et elle est caractérisée par une fluorescence bleue-mauve.

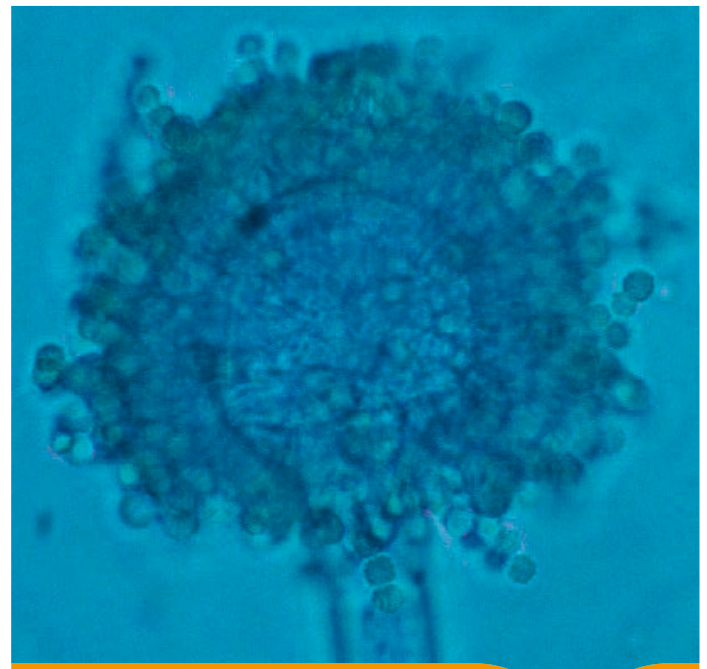
Caractéristiques et sources d'*Aspergillus flavus*

Principales caractéristiques microbiologiques

Ses conidiophores sont formés de stipes rugueux mesurant de 400 µm à 1 mm ou plus de long et se terminent par une vésicule sphérique de 20 à 50 µm de diamètre, fertile sur plus des trois quarts de sa surface, portant à la fois des métules et des phialides de 7 à 10 µm de long (Figure 1). Les conidies sont finement rugueuses et sphériques, de 3 à 5 µm de diamètre.

Tableau 1. Caractéristiques de croissance et de toxinogénèse d'*Aspergillus flavus*

| Croissance | Min | Opt | Max |
|------------------|-----------|-----------|---------|
| Température (°C) | 10-12 | 33 | 43 - 48 |
| pH | 2,1 | 7,5 | 11,2 |
| a _w | 0,78-0,84 | 0,97 | / |
| Toxinogénèse | Min | Opt | Max |
| Température (°C) | 13 | 16 -31 | 37 |
| a _w | 0,82 | 0,95-0,99 | / |



Conidiophore et tête conidienne *A. flavus*

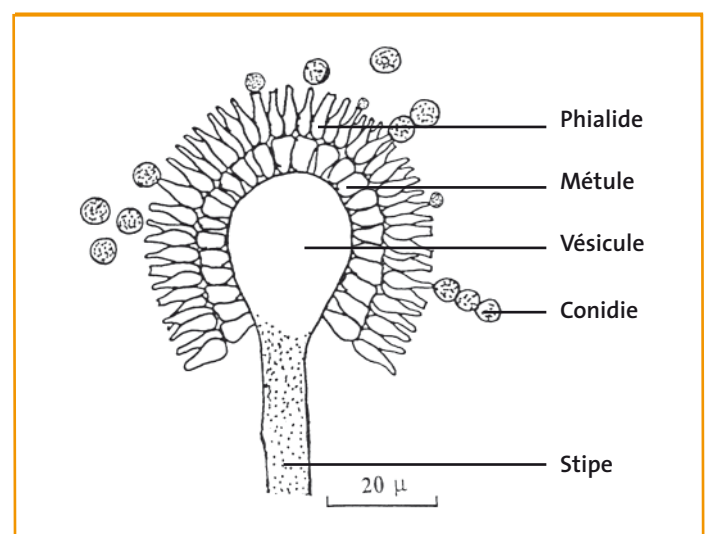


Figure 1. Aspect microscopique d'*Aspergillus flavus*

Sources du danger

Aspergillus flavus est ubiquitaire (végétation, eau, sol, etc.). Les conidies sont dispersées dans l'environnement principalement par l'air, mais aussi par l'eau, les animaux et l'Homme.

Les aflatoxines sont produites au champ ou lors du stockage, principalement en zones de climat subtropical ou méditerranéen, mais également dans les zones tempérées en cas de saisons particulièrement chaudes et sèches.

A. flavus est responsable de la contamination des céréales (principalement le maïs et les produits à base de maïs), des graines oléagineuses et des tourteaux destinés à l'alimentation animale, des fruits à coques (comme les arachides et les pistaches), des épices de toutes sortes, des fruits secs (comme les figues), du café, des fèves de cacao et des produits laitiers (AFM₁). La contamination et la croissance des moisissures productrices d'aflatoxines sont favorisées par la blessure des grains ou des fruits (chocs, attaques d'insectes, etc.).

Plusieurs cas d'aflatoxicose aigüe survenus en élevage, notamment chez les porcins, ont été décrits. La mort des animaux est le plus souvent survenue en quelques heures après un épisode hémorragique sévère. Chez les volailles la forme chronique de l'intoxication est la plus fréquente. Elle se manifeste par une diminution des performances associée à des hémorragies et des défauts de pigmentation des carcasses.

Voies de transmission

L'Homme s'expose aux aflatoxines par voie alimentaire en ingérant des aliments contaminés par les aflatoxines.

Au-delà de la voie alimentaire qui concerne les toxines, l'Homme peut s'exposer par voie pulmonaire (inhalation) aux conidies d'*A. flavus*. Ces conidies constituent un des principaux agents allergènes des aspergilloses bronchiques chez l'Homme et sont responsables d'infections pulmonaires chez des patients immunodéprimés.

Recommandations pour la production primaire

Les mesures de prévention du danger à la source sont les seules envisageables car la détoxification des aliments contaminés par les aflatoxines est très limitée.

- Le respect des bonnes pratiques de culture (éviter les blessures, les attaques d'insectes, etc.) est nécessaire pour éviter l'introduction du danger.
- L'application des bonnes pratiques lors du stockage des céréales, notamment le maintien au sec des produits, est nécessaire pour que les teneurs initiales en aflatoxines n'évoluent pas.

Maladie humaine d'origine alimentaire

Nature des effets toxiques

L'AFB₁ est classée dans le groupe 1 (cancérogène pour l'Homme), l'AFM₁ dans le groupe 2B (cancérogène possible pour l'Homme) et l'AFG₁ dans le groupe 3 (inclassable quant à sa cancérogénicité pour l'Homme) par le CIRC⁽¹⁾ en 1993.

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. Néanmoins, cette relation est modulée par d'autres facteurs aggravants, notamment l'infection par le virus de l'hépatite B. La génotoxicité des aflatoxines est due à la métabolisation de l'AFB₁ en AFB₁ 8,9-époxyde caractérisé par une durée de vie courte, mais hautement réactif. L'AFB₁ 8,9-époxyde est considéré comme le principal métabolite génotoxique par fixation à l'ADN.

Lors d'une intoxication aigüe, les symptômes cliniques typiques, mais non spécifiques incluent ictère, dépression, anorexie et diarrhées. La mortalité a atteint 25 % lors d'intoxications en Inde en 1975 et 40 % dans l'est du Kenya en 2004. Deux syndromes humains, d'étiologie indéfinie, ont été reliés à l'ingestion d'aliments contaminés par les aflatoxines : le kwashiorkor

qui associe hypoalbuminémie et immunodépression et le syndrome de Reye qui associe encéphalopathie et dégénérescence des viscères.

Relations dose-effet⁽²⁾ et dose-réponse⁽³⁾

La relation dose-réponse pour les aflatoxines a été établie chez l'Homme. Le JECFA⁽⁴⁾ et le SCF⁽⁵⁾ n'ont pas fixé de dose journalière tolérable (DJT) pour les aflatoxines. En effet, ces substances présentant des effets cancérogènes génotoxiques sans seuil, la seule approche réaliste est de réduire l'exposition à un niveau aussi faible que possible suivant le principe ALARA (As Low As Reasonably Achievable). Cependant, en se basant sur des données épidémiologiques, le JECFA (1999) a calculé pour l'Europe, que l'ingestion d'1 ng d'aflatoxines par kg de poids corporel et par jour durant la vie entière entraîne une augmentation de l'incidence de cancers du foie de 0,013 cas par an pour 100 000 personnes.

D'après la 2^e étude de l'alimentation totale (EAT 2, Anses 2011), selon l'hypothèse basse ou haute de censure des données de contamination, l'exposition moyenne à la somme des aflatoxines s'élève respectivement à 0,0019 et 0,89 ng/kg de pc/j. Le nombre de cas théorique d'excès de cancer hépatique/an au sein de la population française adulte, lié à cette exposition, apparaît très faible (< 0,07% sous l'hypothèse haute soit 5,2 cas) au regard du nombre de cas de cancer hépatique estimé en France pour 2010 (InVS).

Épidémiologie

La dernière intoxication aigüe reconnue s'est déroulée d'avril à septembre 2004 dans les provinces du centre et de l'est du Kenya durant laquelle 341 cas ont été diagnostiqués conduisant à 123 décès.

La majorité des études épidémiologiques étayant la relation aflatoxine - cancer du foie provient d'Asie du sud-est, de Chine, d'Afrique occidentale et équatoriale, régions du globe où les prévalences du virus de l'hépatite B et de l'AFB₁ sont élevées. En Amérique latine, la prévalence du cancer primitif du foie et de l'infection par le virus de l'hépatite B est faible alors que l'exposition à l'AFB₁ est élevée. La conduite de nouvelles études épidémiologiques dans les régions dites à risque a été recommandée par le JECFA en intégrant pour certains pays des campagnes de vaccination anti-virus de l'hépatite B. Lorsque ces études auront été réalisées, une réévaluation des risques pour l'Homme des aflatoxines pourra être effectuée. Chez les enfants, dans certaines régions africaines, une altération de la croissance et de quelques paramètres immunitaires a également été observée.

Rôle des aliments

Principaux aliments à considérer

En 2007 et 2008, en Europe, la grande majorité des notifications par le RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) concernait les aflatoxines détectées sur les fruits à coques et les céréales, par ordre décroissant d'importance.

Dans le cadre de l'EAT 2, les aflatoxines AFB₂, AFG₁, AFG₂, AFM₁ n'ont pas été détectées ou quantifiées dans les aliments consommés en France. L'AFB₁ n'a été détectée ou quantifiée que dans 0,4 % des aliments, et uniquement dans du chocolat noir. L'exposition aux aflatoxines est équivalente à celle estimée lors de la 1^{ère} étude de l'alimentation totale (EAT 1, INRA 2004).

Les teneurs en aflatoxines dans les aliments sont dépendantes de l'évolution des conditions climatiques au fil des saisons et des années. En effet, un maïs récolté en 2003 (été caniculaire) dans un pays d'Europe méridionale, a présenté une contamination par l'AFB₁, inhabituelle sous cette latitude et révélée par la présence d'AFM₁ dans le lait de vache. 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 inhabituellement chaude et sèche dans la zone septentrionale (sept états du Middle West), a montré que 8 % des maïs récoltés dans cette zone contenaient des aflatoxines.

(1) Centre international de recherche sur le cancer.

(2) Relation entre la dose et l'effet chez un individu.

(3) Pour un effet donné, relation entre la dose et la réponse, c'est-à-dire la probabilité de la manifestation de cet effet, dans la population.

(4) Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires.

(5) Comité scientifique de l'alimentation humaine de l'Union européenne.

Traitements d'inactivation des spores fongiques et des aflatoxines

Les conidies des moisissures productrices d'aflatoxines sont sensibles aux désinfectants chimiques (à visée antifongique) autorisés en industrie agro-alimentaire, sous réserve de suivre les modalités d'utilisation recommandée.

Les conidies d'*A. flavus* sont sensibles à la chaleur. Les valeurs de $D^{(6)}$ les plus fiables à pH neutre et forte a_w sont : $D_{45^\circ\text{C}} = 160$ h ; $D_{50^\circ\text{C}} = 16$ h, $D_{52^\circ\text{C}} = 40-45$ minutes et $D_{60^\circ\text{C}} = 1$ min, avec une valeur de $z^{(7)}$ variant entre 3,3 et 4,1 °C.

Les aflatoxines sont très peu solubles dans l'eau, insolubles dans les solvants non polaires et très solubles dans les solvants moyennement polaires comme le chloroforme et le méthanol. Les points de fusion sont de 268-269 °C (AFB₁), 286-289 °C (AFB₂), 244-246 °C (AFG₁), 230 °C (AFG₂) et 299 °C (AFM₁). Les traitements thermiques (stérilisation, pasteurisation, congélation) ou de séchage (déshydratation, lyophilisation), à l'exception de la torréfaction, ont peu d'effet sur les aflatoxines. Ainsi la torréfaction des arachides ne permet qu'une réduction de 50 à 80 % de la teneur initiale en aflatoxines. Lors des procédés d'extraction d'huile, les aflatoxines se retrouvent majoritairement dans les tourteaux. Les procédés de détoxification des tourteaux destinés à l'alimentation animale, utilisant l'ammoniac associé au formol, permettent d'éliminer jusqu'à 95 % de la teneur initiale en AFB₁.

Surveillance dans les aliments

La directive européenne 2002/32/CE⁽⁶⁾ (et ses modifications) fixe les taux maximum autorisés d'AFB₁ dans les matières destinées à l'alimentation animale, afin de limiter la teneur en AFM₁ dans le lait.

Le règlement (CE) n° 1881/2006⁽⁹⁾ modifié fixe les teneurs maximales en aflatoxines à ne pas dépasser dans les produits alimentaires destinés à l'alimentation humaine. Ces teneurs maximales sont les suivantes :

- AFB₁ : de 2, 5 ou 8 µg/kg pour les arachides, les autres graines et les fruits secs selon le stade de transformation, de 2 à 5 µg/kg pour les céréales selon le produit et son stade de transformation, 5 µg/kg pour certaines épices, et 0,1 µg/kg pour les préparations à base de céréales pour enfants en bas âge ;
- AFB₁+AFB₂+AFG₁+AFG₂ : de 4, 10 ou 15 µg/kg pour les arachides, les autres graines et les fruits secs selon le stade de transformation, de 4 à 10 µg/kg pour les céréales selon le produit et son stade de transformation, 10 µg/kg pour certaines épices ;
- AFM₁ : 0,05 µg/kg pour le lait, et 0,025 µg/kg pour les préparations pour enfants en bas âge.

Le règlement (UE) N°178/2010⁽¹⁰⁾ complète le précédent règlement (CE) N°401/2006⁽¹¹⁾ pour le prélèvement et l'analyse d'échantillons dans les aliments.

Des méthodes normalisées existent pour déterminer les teneurs en aflatoxines pouvant être présentes dans différentes matrices alimentaires. Ainsi, la norme NF EN ISO 17375 : 2006 décrit une méthode de dosage de l'AFB₁ présente dans les aliments pour animaux. La norme NF EN ISO 16050 : 2011 présente une méthode de dosage de l'AFB₁ et de détermination de la teneur globale en aflatoxines B₁, B₂, G₁ et G₂ contenues dans les céréales, les fruits à coques et leurs produits dérivés. Les normes ISO 14675 : 2003⁽¹²⁾ et ISO 14501 : 2007⁽¹³⁾ décrivent des méthodes de dosage de l'AFM₁ contenue dans le lait, les produits laitiers ou la poudre de lait.

Recommandations aux opérateurs

- Respect de la réglementation en vigueur, fixant les teneurs maximales en aflatoxines à ne pas dépasser dans les aliments destinés à l'alimentation humaine et animale.
- Respect des bonnes pratiques de stockage (voir recommandations pour la production primaire).
- Respect des bonnes pratiques d'hygiène lors de la conservation et la fabrication des aliments.
- Utilisation des procédés de détoxification des tourteaux « à risque » destinés à l'alimentation animale.

Hygiène domestique

Recommandations aux consommateurs

- Stocker les denrées alimentaires à risque (céréales, fruits à coques, fruits secs et épices) dans des endroits secs.

Références et liens

Références générales

- Afssa, 2009. Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale : rapport final. <http://www.anses.fr/Documents/RCCP-Ra-Mycotoxines2009.pdf>
- Anses, 2011. Etude nationale de surveillance des expositions alimentaires aux substances chimiques - 2^e étude de l'alimentation totale 2006-2010 (EAT 2). Tome I : Contaminants inorganiques, minéraux, polluants organiques persistants, mycotoxines et phyto-estrogènes. <http://www.anses.fr/Documents/PASER2006sa0361Ra1.pdf>
- Inra, 2004. Etude de l'alimentation totale française (EAT 1). Mycotoxines, minéraux et éléments traces. 68 pages.
- InVS, 2010. Projections de l'incidence et de la mortalité par cancer en France en 2010. http://www.invs.sante.fr/applications/cancers/projections2010/donnees_generales.htm
- RASFF Report, 2008. Rapid Alert System for Food and Feed. Annual Report 2008. European Commission. 56p. http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/report2008_en.pdf

Liens utiles

- Anses : <http://www.anses.fr/PN4701.htm>
- Laboratoire de référence de l'Union européenne pour les mycotoxines : Centre commun de recherche de la Commission européenne - Geel, Belgique.
- Laboratoire national de référence (LNR) pour les mycotoxines (groupe B3d selon l'annexe I de la directive 96/23/CE du Conseil) : Laboratoire de sécurité des aliments - Anses, Maisons-Alfort.
- Centre national de référence (CNR) mycologie et antifongiques : Unité de mycologie moléculaire - Institut Pasteur, Paris.

(6) D est le temps nécessaire, à une température T donnée, pour diviser par 10 la population initialement présente du danger microbiologique donné.

(7) z est l'augmentation de température (°C) nécessaire pour diviser par 10 le temps de réduction décimale.

(8) Directive 2002/32/CE du Parlement Européen et du Conseil du 7 mai 2002 sur les substances indésirables dans les aliments pour animaux.

(9) Règlement (CE) N° 1881/2006 de la Commission du 19 décembre 2006 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires.

(10) Règlement (UE) N° 178/2010 de la Commission du 2 mars 2010 modifiant le règlement (CE) N° 401/2006 en ce qui concerne les arachides, les autres graines oléagineuses, les fruits à coque, les noyaux d'abricot, la réglisse et l'huile végétale.

(11) Règlement (CE) N° 401/2006 de la Commission du 23 février 2006 portant fixation des modes de prélèvement d'échantillons et des méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en mycotoxines des denrées alimentaires.

(12) Milk and milk products - Guidelines for a standardized description of competitive enzyme immunoassays - determination of aflatoxin M₁.

(13) Milk and milk powder - Determination of aflatoxin M₁ content - Clean-up by immunoaffinity chromatography and determination by high-performance liquid chromatography.