

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Biologie  
Spécialité : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire

### Thème

---

#### Les mycotoxines et stress oxydatif

---

**Présenté par :** - Abidellah Nadia

- Dib Nadjet

- Karoune Naziha

**Devant le jury composé de :**

Président : Dr. SOUIKI Linda (M.A)

Examineur : M. MOKHTARI Abd elhamid (Pr.)

Encadreur : M. DJEKOUNE Mohamed (M.A)

Juin 2011

*Au Nom de Dieu le Tout Miséricordieux le  
Très Miséricordieux*

*Merci Dieu tout puissant, qui nous a  
honoré d'être parmi ceux qui savent lire  
et écrire, et qui a guidé notre pas sur le  
chemin de la science .*

*Nous l'implorons de nous éclairer et de  
nous guider sur le chemin .....*

## REMERCIEMENT

*Tout d'abord, nous voudrions adresser nos sincères remerciements et notre gratitude la plus profonde à notre promoteur Mr : Djakkoun. M pour son aide inestimable et son soutien scientifique et moral tout long du travail pour l'accomplissement de cette thèse.*

*A Dr. Souíki L, qui a bien voulu nous faire l'honneur de présider ce jury, à Mr : Moukhetari A.h. qui a accepté d'examiner notre travail une immense reconnaissance.*

*Aussi un grand remerciement aux enseignants de département de la BIOLOGIE à l'université 8 mai 1945 de GUELMA de nous avoir transmis leurs savoirs le long de notre cycle universitaire.*

*Ainsi qu'à toutes les personnes qui nous ont aidés de près et de loin à réalisation de ce travail.*

# Sommaire

- Remerciement
- Liste des abréviations
- Liste des figures
- Liste des tableaux
- Introduction

## Chapitre I : Les mycotoxine

<b>1. Les mycotoxines dans la chaîne alimentaire</b> .....	01
1.1. Les champignons producteurs de mycotoxines .....	01
1.2. Les Facteurs influençant la production des mycotoxines .....	02
1.2.1. Facteurs intrinsèques .....	02
1.2.2. Facteurs environnementaux.....	03
1.2.3. Autres facteurs.....	04
1.3. La mycotoxicogénèse .....	05
<b>2. Les mycotoxines</b> .....	05
2.1. Etymologie et définition .....	05
2.2. Les mycotoxines dans la chaîne alimentaire .....	06
2.3. Les effets toxiques des mycotoxines .....	07
<b>3. Les intoxications dues aux mycotoxines : Les mycotoxicoses</b> .....	08
<b>4. L'Ochratoxine A</b> .....	09
4.1. Généralités sur l'Ochratoxine A .....	09
4.1.1. Structure et propriétés physico-chimiques.....	09
4.1.2. Mycologie et Toxinogénèse.....	10
4.2. L'omniprésence de l'ochratoxine A dans la chaîne alimentaire.....	12

## Chapitre II : Le stress oxydant : les radicaux libres\_antioxydants

<b>1. Le stress oxydant</b> .....	14
1.1. Définition.....	14
1.2. Origine du stress oxydant .....	15
<b>2. Les radicaux libres</b> .....	16
2.1. Définition.....	16
2.2. Les radicaux libres dans systèmes biologiques .....	17
2.3. Sources des radicaux libres.....	20
2.3.1. Sources exogènes.....	20
2.3.2. Source endogènes .....	20
<b>3. Mécanismes antioxydants</b> .....	23
3.1. Les antioxydants enzymatiques .....	24
3.2. Les antioxydants non enzymatiques .....	25
3.3. Antioxydants à faible poids moléculaires (L.M.W) .....	26

## **Chapitre II : La relation entre les mycotoxines et stress oxydant**

<b>1. Devenir de l'ochratoxine A dans l'organisme</b> .....	28
<b>2. Toxicité de l'Ochratoxine A</b> .....	30
2.1. Toxicité aiguë .....	30
2.2. Toxicité subchronique .....	31
2.3. Toxicité chronique .....	31
2.4. Néphrotoxicité .....	32
2.5. Hépatotoxicité.....	32
2.6. Neurotoxicité .....	33
2.7. Immunotoxicité.....	33
2.8. Tératogénicité .....	33
<b>3. Mécanismes d'action de l'Ochratoxine A</b> .....	33
3.1. Interaction avec le métabolisme de la phénylalanine .....	34
3.2. Effets sur le métabolisme des glucides .....	34
3.3. Effets sur le métabolisme des lipides.....	35
3.4. Perturbation de l'homéostasie calcique .....	35
3.5. Inhibition de la respiration mitochondriale.....	35
3.6. Production d'espèces réactives oxygénées et stress oxydant .....	36
3.7. Induction de la mort cellulaire .....	36
3.8. Génotoxicité et mutagénicité .....	37
<b>4. Les différentes stratégies de lutte contre les mycotoxines</b> .....	38
4.1. Les stratégies préventives des contaminations .....	38
4.2. Stratégies de contrôle précédant la récolte .....	39
4.3. Stratégies de contrôle pendant la récolte .....	40
4.4. Stratégies de contrôle après la récolte .....	40
4.5. Les stratégies préventives des mycotoxicoses .....	42
<b>5. Réglementation de l'OTA</b> .....	42

-Conclusion

-Bibliographie

-Résumés

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
01	Principaux facteurs influençant la production des mycotoxines à différentes étapes de la chaîne alimentaire.	04
02	Les champignons et leurs mycotoxines.	06
03	Contamination des denrées alimentaires par différentes mycotoxines.	07
04	Principales mycotoxicoses humaines.	09
05	Niches écologiques des principales espèces productrices d'ochratoxine A.	12
06	Nature des diffirantes espèces radicalaires impliquées dans le stress oxydant.	18
07	Principales sources des RL (endogènes et exogène) .	20
08	Les antioxydants enzymatiques et leurs caractéristiques.	24
09	Principaux systèmes antioxydants non enzymatiques protéiques.	26
10	Propriétés antioxydantes de certains composés à faibles poids moléculaires.	27
11	Toxicité relative de l'ochratoxine A.	31
12	Teneurs maximales en ochratoxine A dans les denrées alimentaires exprimées en µg/kg	43

## Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Les champignons de champs <i>Alternaria alternate</i> , <i>fusarium</i> , <i>Cladosporium</i> .	02
02	Les champignons de stockage <i>Penicillium roqueforti</i> , <i>Aspergillus niger</i> .	02
03	Structure chimique de l'ochratoxine A( $C_{20}H_{18}ClNO_6$ ; PM : 403,82).	10
04	Les moisissure productrice l'OTA( <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium verrucosum</i> ).	11
05	Facteurs intervenant dans l'équilibre de la balance anti/pro-oxydante TNF:Facteur nécrosant des tumeurs ; HSP protéines du choc thermique.	15
06	« Antioxydants » vs « Radicaux libres ».	17
07	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.	19
08	Description des espèces oxygénées activées.	21
09	L'activation du NADPH oxydase .	22
10	Génération d'oxydants réactifs par les neutrophiles.	23
11	Mode d'action des principaux systèmes enzymatique antioxydant et de leurs cofacteurs métalliques.	25
12	Schéma de la métabolisation de l'ochratoxine A.	29
13	Découplage de la chaîne respiratoire et de la synthèse d'ATP	36
14	Représentation schématique de différentes réponses cellulaires consécutives à des lésions occasionnées à l'ADN.	37

## LISTE DES ABREVIATIONS

- $^{1/2} \text{O}_2$  : Oxygène singulet.
- **4-OH-OTA** : la forme hydroxylée de l'OTA.
- **A**: Aspergillus.
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- **AFB1**: aflatoxine B1.
- **AFG1**: aflatoxine G1.
- **AFSSA** : Agence Française de sécurité sanitaire des aliments.
- **AG** : acide gras.
- **ARN** : Acide ribonucléique.
- **ARN** : Acide ribonucléique.
- **ARN<sub>m</sub>** : Acide ribonucléique messenger.
- **ATP** : Adénosine tri phosphate.
- **ATP** : Adénosine triphosphate.
- **CAST** : Council for Agricultural Science and Technology.
- **CAT** : catalase.
- **CE** : commission européenne.
- **Cu, Zn-SOD**: Superoxyde dismutase à cuivre et zinc.
- **Cu<sup>2+</sup>** : le Cuivre.
- **CYTp450** : Cytochrome p 450.
- **DA** : Dark Agouty.
- **DHT**: Dose Hebdomadaire Tolérable.
- **DL50** : dose létale de 50% de la population.
- **DL50** : dose létale de 50% de la population.
- **EFSA**: European Food Safety Authority.
- **EOA** : espèces oxygénées activées.
- **ERA** : Espèce Réactive Réactive.
- **ERO** : Espèce Réactive Oxygéné.
- **FAO** : Food and Agriculture Organisation.
- **Fe<sup>+</sup>** : le Fer.

- **Fe-SOD** : Superoxyde dismutase à manganèse.
- **GP<sub>X</sub>** : Glutathion Peroxydase.
- **GSH** : glutathion réduit.
- **GSH** : Glutathion réduit.
- **GST** : Glutathion-s-transférase.
- **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogène.
- **HACCP** : Hazard Analysis and Control Critical Point.
- **HCl** : acide chlorhydrique.
- **HepG2** : hépatome d'origine humaine.
- **HO<sub>2</sub><sup>0</sup>** : Radical perhydroxyle.
- **HOCL** : l'acide hypochloreux.
- **HOCL** : l'acide hypochloreux.
- **IARC** : Centre International de Recherche sur le Cancer.
- **IARC** : Centre International de Recherche sur le Cancer.
- **IGM** : Immunoglobuline M.
- **IL** : Interleukine.
- **LDL** : Lipoprotéine de basse densité.
- **LDL** : Lipoprotéines en basse densité.
- **LMW** : Antioxydants à faible poids moléculaire.
- **LOAEL** : Dose minimale avec un effet nocif observé (Lowest observed adverse effect level).
- **M** : molaire.
- **Mn-SOD** : Superoxyde dismutase à manganèse.
- **MPO** : Myéloperoxydase.
- **MTT** : 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium bromide : sel de tétrazélium.
- **NADP<sup>+</sup>** : Nicotinamide- adénine-dinucléotide.
- **NADPH, H<sup>+</sup>** : Nicotinamide- adénine-dinucléotide phosphate réduit.
- **NEB** : Néphropathie Endémique des Balkans.
- **NIC** : Néphropathie Interstitielle Chronique.
- **nm** : nanomètre.
- **NO** : Monoxyde d'azote.

- $O_2^{\circ}$  : Anion superoxyde.
- **O-CH3-OTA** : la forme méthylée de l'OTA.
- **OH** : radical hydroxyle.
- **OMS** : Organisation mondiale de la santé.
- **ONOO $\cdot$**  : Radical peroxydinitrite.
- **ONOOH** : Nitroperoxyde.
- **OTA** : Ochratoxine A.
- **OTAQ/OTAHQ** : la forme quinone de l'OTA.
- **OTB** : Ochratoxine B.
- **OTHQ** : Ochratoxine A hydroquinone.
- **Ota** : Ochratoxine  $\alpha$  .
- **P** : Penicillium.
- **p.c** : poids corporel.
- **PEPCK** : la phospho-enol-pyruvate carboxylase cytosolique.
- **Phe** : phénylalanine.
- **PL** : Peroxydation lipidique.
- **PM** : poids moléculaire. **S9** : Surnageant 9000g.
- **RL** : Radicaux Libre.
- **RO $\cdot$**  : Radical alkyle.
- **RO $_2^{\circ}$**  : Radical peroxyde.
- **SOD** : Superoxyde dismutase.
- **TNF** : Facteur Necrosant des tumeur.
- **TNF $\alpha$**  : Facteur de nécrose de tumeur.
- **tRNAPhe** : acide ribonucléique de transfert de phénylalanine.
- **TRX** : Thiorédoxine.
- **UV** : lumière ultra violet.
- **ZEN** : zéaralénone.

# *Introduction*

## **Introduction**

Le risque sanitaire posé par les facteurs environnementaux et particulièrement, la chaîne alimentaire, a pris une grande importance avec l'émergence des épisodes récentes de l'encéphalopathie bovine spongiforme et des salmonelloses. Ces épisodes ont constitué un véritable traumatisme pour la conscience mondiale. Ainsi, l'alimentation constitue à la fois une source de nutrition et un vecteur de contaminants environnementaux (métaux, dioxines), de substances chimiques (pesticides, médicaments vétérinaires, colorants) ou bien de substances naturelles toxiques (phycotoxines, cyanotoxines, mycotoxines).

Les mycotoxines, contaminants naturels de la chaîne alimentaire, retiennent de plus en plus l'attention dans le monde entier, en raison des pertes économiques importantes qui sont liées à leurs effets sur la santé publique, la productivité animale et le commerce. Ce sont des métabolites secondaires produits par des moisissures appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* capables de se développer sur un large éventail de denrées alimentaires avant, pendant et après la récolte (Reboux, 2006).

L'exposition à ces mycotoxines est à l'origine de toxicités aiguës, subchroniques et chroniques en engendrant des effets délétères sur le système nerveux central, l'appareil cardiovasculaire, l'appareil respiratoire, l'appareil digestif et le système urinaire. Elles peuvent aussi induire des effets génotoxiques, mutagènes, carcinogènes, tératogènes et immunosuppresseurs (AFSSA, 2006).

L'ochratoxine A (OTA) est une mycotoxine produite par des champignons du genre *Aspergillus* et *Penicillium*. Elle contamine les denrées alimentaires destinées à l'homme ou aux animaux d'élevage. Outre ses multiples effets toxiques (tératogénicité, carcinogénicité, mutagénicité et immunosuppression), sa néphrotoxicité semble être l'effet prédominant. De plus, elle est considérée comme étant l'agent causal de la Néphropathie Endémique des Balkans (NEB) ainsi que des tumeurs du tractus urinaire.

Face à ces risques alimentaires et à l'émergence d'un sentiment d'insécurité, des stratégies préventives limitant ces contaminations et des traitements industriels visant à décontaminer les denrées alimentaires contaminées par les mycotoxines, se sont mises en place. Cependant, les procédés alimentaires usuels (cuisson, lyophilisation, congélation) ne peuvent en général au mieux que détruire partiellement la plupart des mycotoxines présentes dans les aliments.

L'ochratoxine A est-elle une substance cancérigène génotoxique (formation d'adduits covalents à l'ADN) ou épigénétique (non génotoxique : stress oxydatif par exemple)? Les substances génotoxiques sont des composés dont l'effet cancérigène est qualifié de "sans seuil", car toute exposition à un composé génotoxique, si faible soit-elle, aurait la capacité d'induire une tumeur. Pour ces substances, un coefficient de cancérigénicité est déterminé afin de permettre l'estimation de l'incidence de cancer associé à une dose d'exposition donnée et de déterminer des doses maximales d'exposition tolérables.

Notre manuscrit est structuré en trois chapitres. Il est initié par un chapitre relatif aux mycotoxines, le deuxième chapitre apporte les informations concernant le stress oxydant. Le dernier chapitre de cette revue bibliographique définit la relation entre les mycotoxines et le stress oxydant.

*Chapitre I*

*Les Mycotoxines*

## **1. Les mycotoxines dans la chaîne alimentaire**

Les moisissures sont des champignons microscopiques filamenteux ubiquitaires. En raison de leur hétérotrophie, elles contribuent avec d'autres microorganismes décomposeurs à la biodégradation et au recyclage de la matière organique.

Certaines moisissures sont utilisées dans l'acquisition et l'amélioration des qualités organoleptiques de produits alimentaires (*Penicillium roquefortii* et *P. camembertii* pour la production de fromages), d'autres sont exploitées en biotechnologie pour la production d'enzymes (*Aspergillus niger* pour la production de protéase et pectinase), d'acides organiques (production d'acide citrique et d'acide gluconique par *Aspergillus* et *Penicillium*) ou bien d'antibiotiques (production de pénicilline par *P. chrysogenum*).

En dépit de ces intérêts bénéfiques, la contamination fongique des denrées alimentaires destinées à l'homme ou à l'animal, est responsable de nombreux problèmes économiques et sanitaires (Pitt *et al.*, 2000). En effet, le développement indésirable des moisissures peut modifier l'aspect des produits alimentaires (production de pigments foncés comme la mélanine), et les caractéristiques organoleptiques, comme il peut engendrer des mycoses et des allergies chez le consommateur .

Par ailleurs, certains champignons, dit toxinogènes, peuvent produire des métabolites secondaires lors de leur croissance sur l'aliment. Ces métabolites pourraient être impliqués aussi dans de graves problèmes sanitaires, c'est le risque d'intoxications alimentaires dues à la présence de toxines de moisissures appelées mycotoxines (Bennett & Klich, 2003).

### **1.1. Les champignons producteurs de mycotoxines**

En raison de leurs différences morphologiques, génétiques et écologiques, les champignons toxinogènes (producteurs de toxines) peuvent être classés en deux groupes principaux ( Cast, 2003).

✓ **Les champignons de champs**, champignons mésophiles qui envahissent leur substrat, produisent des mycotoxines sur des plantes sénescents ou stressées et contaminent les produits agricoles avant ou pendant la récolte. Ce groupe est représenté principalement par les genres *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* mais aussi des *Aspergillus* dans le cas des raisins

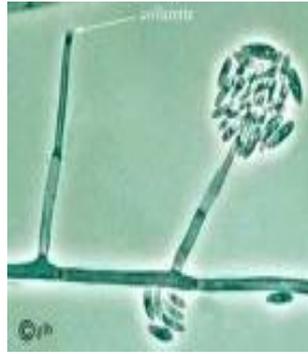
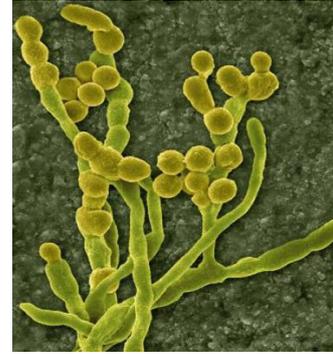
*Alternaria alternata**Fusarium**Cladosporium*

Figure 1 : Les champignons de champs *Alternaria alternata* [9], *Fusarium* [10] ,  
*Cladosporium*[11].

- ✓ **Les champignons de stockage**, champignons xérophiles qui tendent à produire leurs mycotoxines pendant le stockage tels que les genres *Penicillium* et *Aspergillus*.

*Penicillium roqueforti**Aspergillus niger*

Figure 2 : Les champignons de stockage *Penicillium roqueforti* [12], *Aspergillus niger*[13].

## 1.2. Les Facteurs influençant la production des mycotoxines

La contamination mycotoxique d'une denrée n'est pas seulement conditionnée par des facteurs intrinsèques propres à l'espèce fongique mais aussi par l'intervention de facteurs intrinsèques, environnementaux et nutritionnels, qui peuvent influencer fortement la croissance du champignon et sa toxicogénèse.

### 1.2.1. Facteurs intrinsèques

Le type et la quantité de mycotoxine dépendent des espèces fongiques qui les produisent. Les mycotoxines sont produites par de nombreuses moisissures dotées génétiquement d'un pouvoir toxigène. Un champignon toxigène peut produire plusieurs

mycotoxines et des mycotoxines identiques peuvent être synthétisées par des champignons de genres et d'espèces différents (Hussein & Brasel, 2001). Par ailleurs, au sein d'une espèce réputée toxigène, toutes les souches ou isolats n'élaborent pas des mycotoxines. Les raisons de ces différences sont mal connues.

La présence des champignons toxigènes sur une denrée n'est pas nécessairement le signe d'une contamination par des mycotoxines : la production de mycotoxines par le champignon aura lieu uniquement si les conditions environnementales favorables à cette contamination sont réunies.

### **1.2.2. Facteurs environnementaux**

Les facteurs environnementaux affectant la production de mycotoxines peuvent être d'origine physique, chimique ou biologique . Ainsi, les paramètres environnementaux tels que le taux d'humidité, la température, la présence d'oxygène ou la nature du substrat (composition en glucides, lipides et protéines) conditionneront le développement des moisissures et la production de mycotoxines. Cependant, ces facteurs agissent rarement de façon indépendante .

D'un manière générale, l'échelle de température varie de 10 °C à 60 °C, l'humidité va de 70% à 100% et le rapport entre la teneur en oxygène et en gaz carbonique est aussi un facteur important (Hussein & Brasel, 2001).

Le Tableau 1, illustre les principaux facteurs environnementaux qui peuvent influencer la production de mycotoxines à différentes étapes de la chaîne alimentaire.

**Tableau 1 : Principaux facteurs influençant la production des mycotoxines à différentes étapes de la chaîne alimentaire (Hesseltine, 1976).**

Facteurs	au champ	à la récolte	pendant le stockage
<i>Physiques</i>			
- Humidité (Activité en eau, Humidité relative)	+	+	+
- Température	+	+	+
- Dommages mécaniques	+	+	+
- Mélange de grains	--	+	+
- Temps	+	+	+
<i>Chimiques</i>			
- Composition gazeuse (O <sub>2</sub> - CO <sub>2</sub> )	--	--	+
- Nature du substrat	+	--	+
- Traitement chimique	-	-	+
<i>Biologiques</i>			
- Stress de la plante	+	--	+
- Vecteurs invertébrés	+	--	+
- Différences entre les variétés des plantes	+	--	+
- Différences entre les souches fongiques	+	--	+
- Charge en spores	+	+	+
- Système microbiologique	+	-	+

+ : effet ; -- : pas d'effet

### 1.2.3. Autres facteurs

Des micro-organismes compétitifs peuvent affecter la production de mycotoxines au niveau des produits agricoles. Ils peuvent augmenter ou gêner la formation des mycotoxines soit en changeant le métabolisme de l'organisme producteur, par la compétition pour les substrats, soit en changeant les conditions environnementales (rendre défavorables à la production de mycotoxines) ou bien en produisant des composés inhibiteurs .

Par ailleurs, plusieurs facteurs additionnels peuvent influencer la production des mycotoxines dans le champ. Il s'agit par exemple des différences géographiques, de la variété de la plante et des pratiques agricoles comme le labourage, la rotation de récolte et l'utilisation des fongicides .Les insectes et les acariens jouent également un rôle important en

tant que vecteurs de dissémination des spores fongiques d'une part et de biodétérioration des céréales facilitant l'invasion fongique d'autre part (Muir & Kalan, 1998).

### **1.3. La mycotoxicogénèse**

La mycotoxicogénèse ou processus de synthèse et d'excrétion des mycotoxines, est un phénomène d'une grande complexité.

Ces mycotoxines sont élaborées lors de quatre processus différents mettant en jeu métabolisme secondaire fongique, la bioconversion de composés végétaux (dicoumarol), la réaction de la plante à des agressions (coumesterol) ou l'association plante- champignons (champignons endophytes). Bien que le premier processus semble être le plus fréquent (surtout pendant la conservation des grains), les autres possibilités ne doivent pas être négligées. Le métabolisme secondaire, n'est pas lié à la croissance cellulaire mais répond généralement à des signaux issus de l'environnement du champignon (Yiannikouris & Jouany, 2002). Il peut être spécifique d'une espèce, voire d'une souche fongique et de ses caractéristiques génétiques.

Les mycotoxines sont ainsi des métabolites secondaires non essentiels à la croissance fongique et couvrent un large éventail de familles chimiques. Elles ne constituent pas une classe chimique mais peuvent être classées selon leur voie de biosynthèse:

- ✓ **Dérivées des acides aminés** tels que les alcaloïdes de l'ergot, l'acide cyclopiazonique, l'acide aspergillique, la Gliotoxine, la Roquefortine, les sporidesmines, etc...
- ✓ **Dérivées de polycétoacides** tels que les aflatoxines, l'acide pénicillique, la citrinine, les ochratoxines, la patuline, la zéaralénone, les fumonisines, la stérigmatocystines, etc....
- ✓ **Dérivées des terpènes** tels que la diacétoxyscirpénol, le déoxynivalénol, la fusarénone, la toxine T2, les verrucarines, etc...

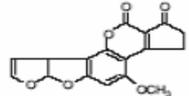
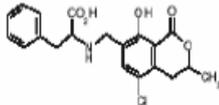
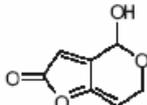
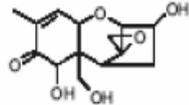
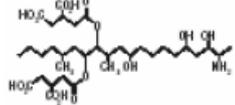
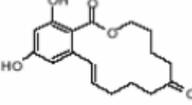
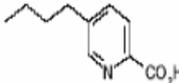
## **2. Les mycotoxines**

### **2.1. Etymologie et définition**

Le terme mycotoxine vient du grec «mycos» qui signifie champignon et du latin «toxicum» qui signifie poison. Il désigne des métabolites secondaires élaborés par des champignons filamenteux microscopiques ou moisissures vers la fin de la phase exponentielle de leur croissance et n'ont aucune signification biochimique ni pour la croissance et le développement fongique ni pour la compétition (Hussein & Brasel, 2001).

Ces métabolites peuvent présenter une diversité structurale importante (Bennett & Klich, 2003) (Tableau 2). Les principaux champignons toxigènes producteurs de mycotoxines appartiennent principalement aux genres *Claviceps*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus* et *Fusarium*.

**Tableau 2 : Les champignons et leurs mycotoxines (Yiannikouris & Jouany, 2002).**

Champignons toxigènes	Mycotoxines
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i>	Aflatoxines B1, B2, G1, G2 
<i>Penicillium verrucosum</i> <i>Aspergillus clavatus</i>	Ochratoxine A 
<i>Penicillium expansum</i> , <i>P. urticae</i> <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>Byssochlamys nivea</i>	Patuline 
<i>Fusarium sporotrichioides</i> , <i>F. graminearum</i> <i>F. culmorum</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. tricinctum</i> , <i>F. acuminatum</i>	Trichotécènes (Déoxynivalénol) 
<i>Fusarium moniliforme</i> <i>F. proliferatum</i> ,	Fumonisine B1, B2, B3 
<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. crookwellense</i>	Zéaralénone 
<i>F. moniliforme</i> , <i>F. crookwellense</i> , <i>F. subglutinans</i> , <i>F. sambucinum</i> , <i>F. napiforme</i> , <i>F. heterosporum</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. proliferatum</i>	Acide fusarique 

## 2.2. Les mycotoxines dans la chaîne alimentaire

Les mycotoxines sont des petites molécules (PM < 1000 Da), peu solubles dans l'eau et difficilement métabolisées par les organismes vivants. Elles sont très stables, entre autres à l'acidité et surtout à la chaleur ce qui rend leur élimination et par conséquent la décontamination des denrées alimentaires, très problématiques. Même après disparition des

moisissures, les mycotoxines éventuellement produites peuvent rester sur les denrées alimentaires et se transférer tout au long de la chaîne alimentaire dans les produits dérivés.

L'entrée des mycotoxines dans la chaîne alimentaire s'effectue soit directement, par la consommation de produits à base végétale (céréales et produits dérivés arachides, pistaches, amandes...), soit indirectement par la consommation de produits d'origine animale (lait et produits laitiers, abats, charcuterie...) issus d'animaux ayant consommé une nourriture contaminée par des mycotoxines. Le Tableau 3 illustre quelques exemples de denrées alimentaires contaminées.

**Tableau 3 : Contamination des denrées alimentaires par différentes mycotoxines (Reboux, 2006)**

<i>Denrée</i> <i>mycotoxines</i>	<i>Pain à base de maïs, pâtes</i>	<i>Céréales</i>	<i>Bière</i>	<i>Vin</i>	<i>Jus fruit</i>	<i>Fruits, Noix</i>	<i>Cacao, Café</i>	<i>Charcuterie</i>	<i>Fromage, lait</i>	<i>Produits fermentés</i>	<i>Gâteaux, Chocolat</i>
<i>Ochratoxines</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Fumonisines</i>	X	X	X								
<i>Trichothécènes</i>	X	X	X								X
<i>Zéaralénone</i>	X	X	X							X	X
<i>Citrinine</i>		X						X			
<i>Patuline</i>	X				X						
<i>Aflatoxines</i>						X			X	X	

**2.3. Les effets toxiques des mycotoxines**

L'exposition humaine et animale aux mycotoxines se manifeste essentiellement par ingestion, mais aussi par inhalation ou par contact cutané. Cette exposition est à l'origine de toxicités aiguës, subchroniques et/ou chroniques, en fonction du type de la toxine et de la dose ingérée . Les intoxications aiguës sont exceptionnelles et rares en raison des faibles quantités pouvant être ingérées avec des aliments contaminés. Toutefois, les intoxications chroniques sont les plus fréquentes en raison d'un effet cumulatif, des habitudes alimentaires et de la rémanence de ces toxines (AFSSA, 2006).

Les mycotoxines sont dotées d'un large spectre d'effets toxiques. Certaines toxines exercent un pouvoir hépatotoxique (aflatoxines, ochratoxines, fumonisines), d'autres se révèlent néphrotoxiques (ochratoxines, citrinine), neurotoxiques (trichotécènes, patuline), immunotoxiques (aflatoxines, ochratoxines, fumonisines, trichotécènes), hématotoxiques (trichothécènes,) et oestrogéniques (Zéaralénone). De même, les aflatoxines, les fumonisines,

la zéaralénone et les ochratoxines sont reconnues être génotoxiques et cancérogènes ( Hussein & Brasel, 2001 ; Bennett & Klich, 2003 ; AFSSA, 2006).

Bien que plus de 400 mycotoxines aient été identifiées et répertoriées, seulement une trentaine possède de réelles propriétés toxiques préoccupantes pour l'homme. Les plus importantes des points de vue agro-alimentaire et sanitaire et faisant l'objet d'une surveillance régulière sont les aflatoxines, les ochratoxines, la zéaralénone, les fumonisines, la citrinine, la patuline, les trichotécènes et aussi le déoxynivalénol (Bennett & Klich, 2003 ; AFSSA, 2006).

### **3. Les intoxications dues aux mycotoxines : Les mycotoxicoses**

La consommation des denrées alimentaires contaminées par des mycotoxines peut engendrer de graves manifestations pathologiques humaines et animales, connues sous le nom de mycotoxicoses.

Les mycotoxicoses sont considérées comme des maladies alimentaires qui ne sont ni infectieuses ni contagieuses (Hussein & Brasel, 2001). Les symptômes dépendent de la nature de la mycotoxine en question, la dose et la durée d'exposition, l'âge, le sexe et l'état sanitaire de l'individu exposé ainsi que d'autres facteurs synergiques (la prédisposition génétique, le régime alimentaire et l'interaction avec d'autres substances toxiques) (Bennett & Klich, 2003). Plusieurs cas de mycotoxicoses ont été découverts dans le monde dont la plus ancienne, depuis le Moyen-Age, fut l'ergotisme\* dont le champignon incriminé est *Claviceps purpurea* (Reboux, 2006).

Les intoxications dues aux mycotoxines sont aiguës chez l'animal, alors qu'elles sont chroniques et plus rarement létales chez l'homme (AFSSA, 2006) (Tableau 4).

Parmi les mycotoxines incriminées dans des mycotoxicoses humaines et depuis qu'elles ont été impliquées dans des néphropathies humaines telles que la néphropathie endémique des Balkans, les ochratoxines suscitent l'intérêt de nombreux travaux scientifiques concernant aussi bien leur détection dans de nombreuses denrées alimentaires que leurs effets toxiques.

Tableau 4 : Principales mycotoxicoses humaines (Pfohl-Leszkowicz, 2000) .

Mycotoxicoses	Espèce fongique	Mycotoxines	Substrats	Symptômes
<b>Formes aiguës de mycotoxicoses humaines</b>				
Ergotisme gangréneux*	<i>Claviceps purpurea</i> , <i>C. fusiformis</i>	Alcaloïdes de l'ergot	Seigle, céréales	Vasoconstriction, gangrène
Aleucie toxique alimentaire*	<i>Fusarium</i>	Trichothécènes	Céréales, pain	Brûlures du tube digestif, nausées, vomissements.
Syndrome de Reyes*	<i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxines	Céréales	Accumulation AG foie, rein, cœur, encéphalopathie, œdème
Hépatite aiguë	<i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>A. flavus</i>	Aflatoxines	Céréales (Maïs)	Jaunisse, œdème
<b>Formes chroniques de mycotoxicoses humaines</b>				
Cancer de l'œsophage	<i>Fusarium</i>	Fumonisine, fusarine C	Céréales	Tumeurs
Cirrhose (enfant)	<i>Aspergillus</i>	Aflatoxine	Céréales	Nécrose du foie
Hépatocarcinomes	<i>Aspergillus</i>	Aflatoxine	Céréales	Tumeurs du foie
Néphropathie endémique	<i>A. ochraceus</i> , <i>Penicillium verrucosum</i>	Ochratoxine A	Céréales	Nécroses tubules et glomérules

## 4 .L'Ochratoxine A

### 4.1. Généralités sur l'Ochratoxine A

#### 4.1.1. Structure et propriétés physico-chimiques

L'ochratoxine A (OTA) a été découverte pour la première fois en 1965 à l'occasion d'une recherche systématique de mycotoxines.

Elle est constituée d'une molécule de L-phénylalanine engageant son groupement amine dans une liaison pseudo-peptidique avec le groupement carboxyle en C7 de la 7-carboxy-3- méthyl-5-chloro-8-hydroxy-3,4-dihydroisocoumarine (Figure 3).

C'est un composé cristallin incolore, de poids moléculaire 403,8 et de formule brute C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>ClNO<sub>6</sub>.

A pH acide, l'OTA est soluble dans les solvants organiques polaires et peu solubles dans l'eau. A pH alcalin, elle est soluble et stable dans le bicarbonate de sodium 0,1 M et dans les solutions alcalines en général. Ces propriétés sont utilisées pour l'extraction et la purification de l'OTA à partir de divers types d'échantillons.

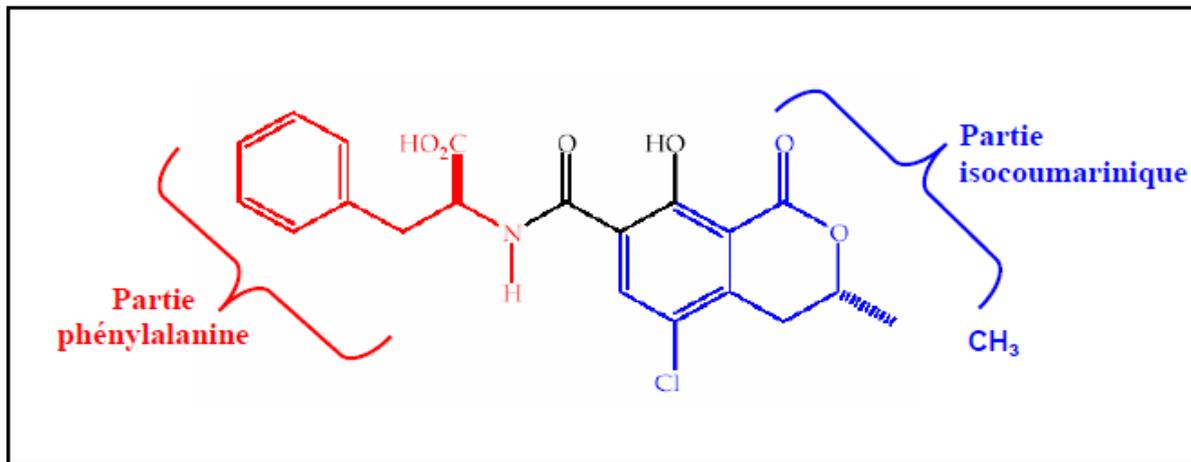


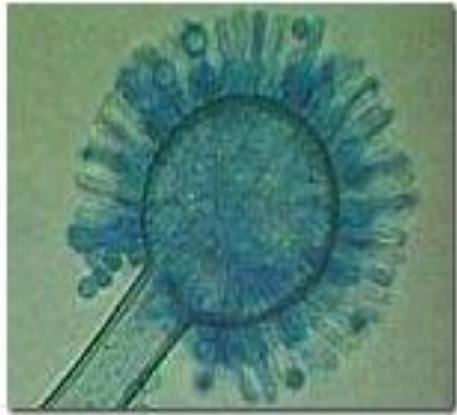
Figure 3 : Structure chimique de l'ochratoxine A (C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>ClNO<sub>6</sub> ; PM : 403,82)

L'OTA absorbe la lumière Ultra-Violette. Dans le méthanol, le maximum d'absorption est à 333 nm avec un coefficient d'extinction molaire de 5500. Dans le bicarbonate de sodium, 0,1 M pH 7,4, le maximum d'absorption est à 378 nm avec un coefficient d'extinction molaire de 14700.

En milieu acide, l'OTA présente des propriétés de fluorescence (longueur d'onde d'émission = 365 nm), cette fluorescence est verte à 365 nm alors qu'en milieu alcalin, elle est bleue. Cette propriété est mise à profit pour sa détection et son dosage.

#### 4.1.2. Mycologie et Toxinogénèse

L'OTA est sécrétée par des moisissures appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*. La production est influencée par les conditions de température et d'humidité. Ainsi, dans les régions froides et tempérées, l'OTA est principalement produite par *Penicillium verrucosum* ou *P. nordicum*. *P. verrucosum* contamine les produits végétaux notamment les céréales alors que *P. Nordicum* est détecté dans les viandes et les fromages. Dans les régions tropicales et semi-tropicales, l'OTA se trouve synthétisée principalement par *Aspergillus ochraceus* (OMS/FAO, 2001).

*Aspergillus ochraceus**Penicillium verrucosum*

**Figure 4 : Les moisissures productrices l'OTA (*Aspergillus ochraceus* [14] *Penicillium verrucosum*[15]).**

Par ailleurs, deux autres espèces d'*Aspergillus* ont été rapportées en tant que productrices d'OTA, il s'agit d'*A.niger* et *A. carbonarius*. Le premier contamine principalement les céréales et les oléagineux alors que le second est plutôt rencontré dans le raisin et le café .Ces espèces diffèrent par leurs niches écologiques, les denrées qu'elles contaminent et par leur incidence dans différentes régions géographiques (Tableau 5).

Notons de même que la nature du substrat influence la production de l'OTA, ainsi elle se trouve synthétisée préférentiellement sur les aliments acides.

Les voies de biosynthèse fongique de l'OTA ne sont pas complètement établies. Cependant, des expériences utilisant des précurseurs marqués au  $^{14}\text{C}$  ont montré que la partie phénylalanine provient de la voie des acides shikimiques alors que la partie dihydrocoumarinique (Ota) provient de la voie des polyketides (Ringot *et al.*, 2006). Une fois formées, l'ochratoxine A synthase catalyse l'enchaînement d'Ota à la phénylalanine.

**Tableau 5 : Niches écologiques des principales espèces productrices d'ochratoxine A (Van der Merwe *et al.*, 1965 ; Pitt, 1987 ).**

Espèce productrice	Conditions écologiques	Denrées contaminées	Régions géographiques
<i>Penicillium verrucosum</i>	0°C < $\theta$ < 31°C Optimum 20°C aw < 0,8	Céréales, produits céréaliers, viande et abats de porc	Régions froides ou tempérées (Canada, Europe centrale et du Nord)
<i>Aspergillus ochraceus</i>	8°C < $\theta$ < 37°C Optimum 24-31°C aw > 0,79 Optimum 0,95-0,99 2,2 < pH < 10 Optimum 3-10	Denrées stockées et déshydratées: Céréales, amandes, cacahuètes, café noisettes, haricots secs, fruits secs, poisson fumé et séché.	Régions tropicales, subtropicales et méditerranéennes
<i>Penicillium carbonarius</i>	$\theta$ < 40°C Optimum 32-35°C aw > 0,82 à 25-30°C	Raisin de table, raisins secs, vin, café	

$\theta$  : température ; aw : activité de l'eau

#### 4.2. L'omniprésence de l'ochratoxine A dans la chaîne alimentaire

L'entrée de l'Ochratoxine A dans la chaîne alimentaire peut s'effectuer soit directement par consommation de produits végétaux contaminés et leurs dérivés, soit indirectement par consommation de produits issus d'animaux exposés à une alimentation contaminée.

L'ochratoxine A est un contaminant alimentaire naturel qu'on retrouve essentiellement dans les céréales notamment le blé, l'orge, le seigle, le maïs, l'avoine, le sorgho etc. Elle se trouve aussi dans le riz, le soja, le café, le thé, l'arachide, le cacao, les haricots, les pois, les cacahuètes, les fruits séchés (figues, pruneaux), les produits oléagineux et les denrées alimentaires destinés aux animaux.

On note sa présence également dans les produits dérivés des céréales comme la farine, le pain, les pâtes, la bière et même dans le vin et les jus de raisin.

La contamination par l'OTA des aliments à base de céréales a été largement décrite. L'incidence ainsi que les niveaux de contamination des denrées alimentaires sont très importants, ainsi il a été montré que 60 à 100% des échantillons alimentaires analysés sont contaminés par l'OTA à des taux allant de 0,2 à 46830 ng / kg. Récemment, l'OTA a été montrée prédominante dans des denrées alimentaires (épices, sorgho, céréales et dérivées, maïs, riz, orge et dérivés) destinées à la population avec des teneurs allant de 0,8 à 36,4 ng/g. Généralement, les fréquences et les niveaux de contamination par l'OTA sont plus élevés dans les produits céréaliers, en particulier ceux destinés à l'alimentation animale (Yiannikouris & Jovani, 2002).

En plus de la contamination naturelle des denrées alimentaires par l'OTA, les habitudes alimentaires particulières des populations ainsi que les conditions de transformation et de stockage amplifient encore la présence de l'OTA dans la chaîne alimentaire . Les céréales et leurs dérivés, constituants essentiels de l'alimentation algériennes, représentent les principaux vecteurs de champignons producteurs de l'OTA.

De plus, la présence de l'OTA a été mise en évidence dans le sang et les tissus des animaux d'élevages tels que le veau, le porc et les volailles, ayant reçu une alimentation contaminée, où l'OTA s'accumule essentiellement aux niveaux rénal et hépatique. En effet, l'ochratoxine A a été signalée dans les abats (rognons, foie) ou dans des préparations charcutières (produits dérivés du sang, boudins, saucisses...) et aussi dans d'autres produits d'origine animale destinés à l'alimentation humaine comme le lait, les fromages, la viande et les oeufs.

Par ailleurs, L'OTA a été détectée dans des échantillons de sang humain d'individus en bonne santé dans divers pays du monde à l'instar de la Suède, la Norvège, le Canada, l'Allemagne, l'ex-Yougoslavie, l'Italie, la France où 22 à 25 % de la population est touchée avec des teneurs en OTA comprises entre 0,1 et 130 ng/ml (Creppy *et al.*, 1993).

# *Chapitre II*

*Le stress oxydant: les  
radicaux libres/antioxydants*

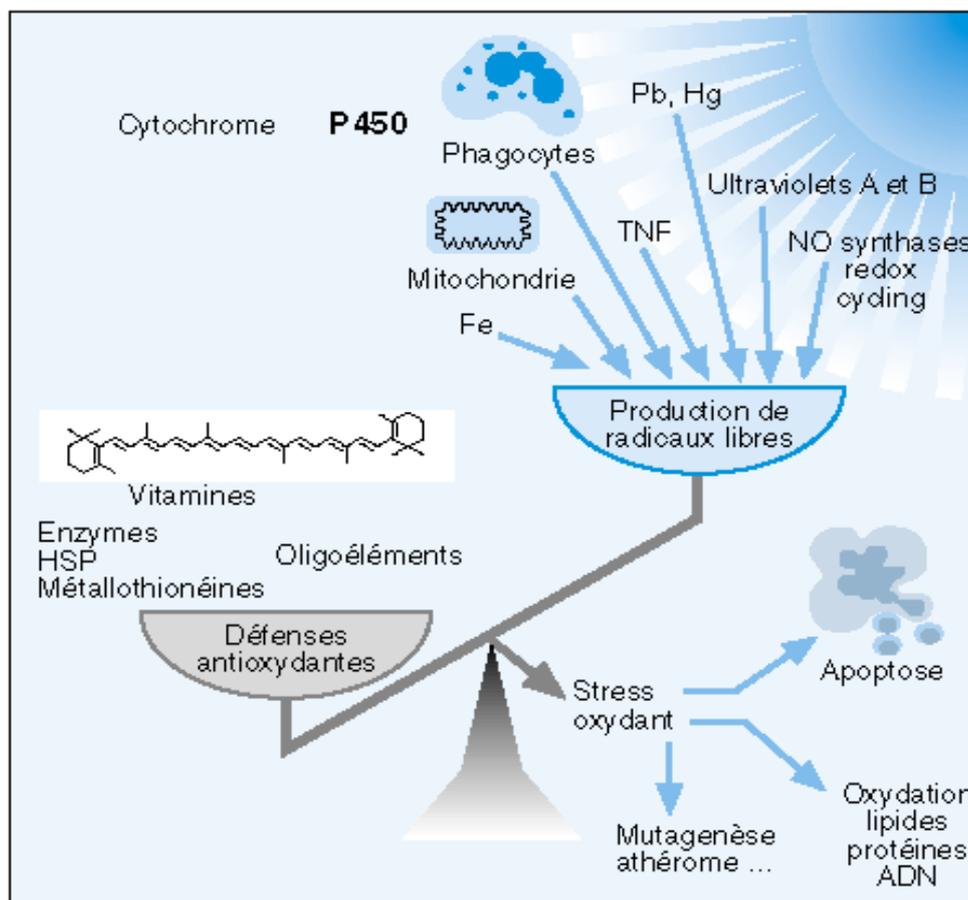
## **1. Le stress oxydant**

### **1.1. Définition**

Un stress oxydant se définira comme étant un déséquilibre de la balance entre les antioxydants et les pro-oxydants[6]. Ce déséquilibre pro-oxydant peut avoir par une hyperproduction des radicaux libres ou un dysfonctionnement de certaines sources de production ou des systèmes élimination des espèces oxygénées activées EOA « d'après Favier et Pequegnat (2002) ». Mais chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant en fonction de son mode de vie, de ses caractéristiques génétique ou de l'environnement dans lequel il vit. Les bonnes habitudes alimentaires jouent aussi un rôle primordial dans le maintien d'un potentiel antioxydant optimal.

L'origine d'une augmentation du stress oxydant dans notre organisme peut avoir par diverses facteurs qui entraînent la surproduction des radicaux libres telle que : exposition aux radiations, exposition prolongée au soleil, tabagisme (la fumée de cigarette contient 1019 d'espèces oxygénées activées), pratique trop intense ou mal gérée d'un sport, consommation excessive d'alcool et pollution.... D'autre part l'augmentation de ce phénomène peut apparaître par la déficience en antioxydants comme les vitamines (A, C, E), oligo-éléments et d'autres poly phénols qui sont essentiellement apportés par les fruits et légumes [6]. Fig 05

Malgré, les effets mortels de ces radicaux libres, ils sont aussi indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui, à part la phagocytose, ont été découvertes récemment. Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction des signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la différenciation cellulaire et à la régulation des gènes « D'après Favier (2003) ».



**Figure 5 : Facteurs intervenant dans l'équilibre de la balance anti/pro-oxydante TNF : Facteur nécrosant des tumeurs ; HSP protéines du choc thermique" D'après Favier (1997)".**

## 1.2. Origine du stress oxydant

La découverte d'espèces chimiques radicalaires présente normalement dans l'organisme a bouleversé notre compréhension des mécanismes biologiques. Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable, mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants.

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres tissulaires ou produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents, dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est

en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant ». Cette rupture d'équilibre, lourde de conséquence, peut avoir de multiples origines. L'organisme peut avoir à faire face **Fenton**. Les particules inhalées (amiante, silice) sont aussi des sources de radicaux libres, d'une part parce qu'elles exacerbent la phagocytose, d'autre part parce que leur surface est tapissée de sels de fer. Les rayonnements sont capables de générer des radicaux libres, soit en scindant la molécule d'eau lorsqu'il s'agit des rayons ionisants x ou y, soit en activant des molécules photo sensibilisantes lorsqu'il s'agit des rayons ultraviolets qui vont par ce mécanisme produire des anions superoxyde et de l'oxygène singulet « D'après Favier (2003) ».

## **2. Les radicaux libres**

L'oxygène est un gaz indispensable à la vie. Il est apparu sur la terre il y a plus de 2500 millions d'années de façon concomitante à l'évolution des algues bleues. A l'exception de certains organismes anaérobies et aérotolérants, il est nécessaire à tous les animaux, plantes et bactéries pour produire de l'énergie par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons, comme celle existant dans les mitochondries des cellules eucaryotes. Mais la majeure toxicité provient de la formation de radicaux libres qui ont de nombreux effets délétères.

En effet, 95 de l'O<sub>2</sub> sont utilisés pour la respiration et le reste est utilisé pour fabriquer les radicaux libres [4]. En biologie, le terme « radical libre » est plus particulièrement utilisé dans le contexte de la communication des entreprises pharmaceutiques et cosmétiques. Le terme scientifique correct est « espèce oxygénée activée » avec l'abréviation EOA [5].

### **2.1. Définition**

Un groupe de termes est utilisé dans la littérature scientifique pour désigner les radicaux libres ; oxyradicaux, radicaux libres de l'oxygène et oxydants en raison de leur haute réactivité qui leur permet de gagner un électron à partir d'autres composés en causant leur oxydation, ainsi que d'autres nominations.

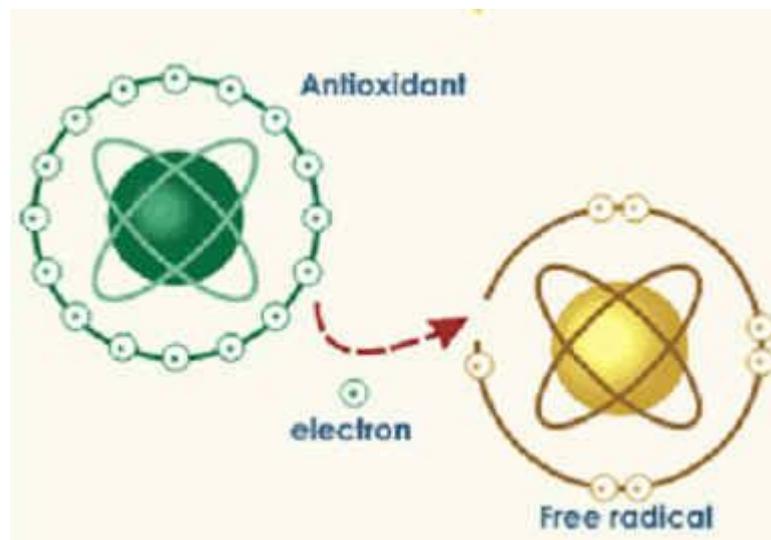
Les RL sont des espèces chimiques indépendantes, atome, molécules ou leurs fragments possédant un ou plusieurs électrons non appariés (célibataires) sur l'orbitale externe. Le champ magnétique créé par sa rotation, ou spin, n'est donc pas compensé par la rotation en sens inverse d'un électron apparié (Benaraba, 2007).

Cette propriété lui confère une réactivité importante ; les RL réagissent avec différentes molécules, dont les composés cellulaires : lipides, protéines et acides nucléiques

(Benaraba, 2007), pour capter ou céder leurs électrons, créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant des réactions en cascade. Cette réactivité des radicaux de l'oxygène ne doit pas non plus être exagérée car elle est très variable selon la nature du radical, et la durée de vie qui est extrêmement brève, de quelques fractions de seconde.

L'existence des RL primaires qui dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron, et d'autres radicaux secondaires formés par la réaction des radicaux primaires sur les composés biochimique de la cellule, ainsi que des espèces non radicalaires dérivé de l'oxygène, et douées d'une réactivité semblable, impose la notion des espèces réactives de l'oxygène (ERO), pour désigner l'ensemble des entité possédant toutes au moins un atome d'oxygène qui leur confère un critère défini d'être chimiquement réactif. En conséquence, tous les radicaux oxygénés sont des ERO, mais tous les ERO ne sont pas des radicaux (Bertrand, 2008).

Les Espèces Réactives de l'Azote (ERA) possédant à la fois des capacités oxydantes et nitrifiantes, devraient plutôt être dénommées Espèces Réactives de l'Oxygène et de l'Azote.



**Figure 6 : « Antioxydants » vs « Radicaux libres » [17]**

## **2. 2. Les radicaux libres dans les systèmes biologiques**

Si l'oxygène tient un rôle fondamental dans la biologie des organismes vivants, c'est notamment en raison des propriétés physico-chimiques exceptionnelles de cette molécule, et à sa potentialité à entrer dans de nombreuses voies métaboliques. Parmi ces voies, certaines sont impliquées dans la genèse d'espèces radicalaires (Bertrand, 2008).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer trois groupes : Les radicaux primaires, les radicaux secondaires et d'autres espèces dérivées de l'oxygène (Favier, 2003). Les principaux ERO rencontrés en biologie sont montrés dans le Tableau 06

**Tableau 6 : Nature des diffirantes espèces radicalaires impliquées dans le stress oxydant (Delattre et al. 2005)**

<i>Radicaux libres primaires</i>	<i>Dérivés oxygénés non radicalaires</i>
$O_2^{\circ-}$ = Radical superoxyde.	$1/2O_2$ = Oxygène singulet
$HO_2^{\circ}$ = Radicale perhydroxyle	$H_2O_2$ = Peroxyde d'hydrogène.
$^{\circ}OH$ = Radical hydroxyle	$ONOOH$ = Nitroperoxyde
$RO_2^{\circ}$ = Radical peroxyde	$ONOO^-$ = Peroxynitrite
$RO^{\circ}$ = Radical alkoxyde.	
$NO^{\circ}$ = monoxyde d'azote	

➤ **Les radicaux primaires**

Constituent un ensemble restreint de composés radicalaires, directement dérivées de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde ( $O_2^{0-}$ ) et le radical hydroxyle ( $OH^{\circ}$ ), ou de l'azote tel le monoxyde d'azote ( $NO^{\circ}$ ) .

➤ **Les radicaux secondaires**

Les radicaux secondaires se forment par réaction des radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. Contrairement aux ERO primaires, produites de façon régulière et en quantité importante par les cellules, les ERO secondaires sont seulement formées dans des conditions particulières (Bertrand, 2008).

➤ **D'autres espèces dérivées de l'oxygène**

Dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet  $^1O_2$ , le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ou le nitroperoxyde ( $ONOOH$ ), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de certains radicaux (Delattre et al. 2005).

Considéré comme étant le chef de file des espèces oxygénées réactives, l'anion superoxyde ( $O_2^{\circ-}$ ) va déclencher une cascade de réaction de réduction monovalente aboutissant à la formation des différents types de radicaux libres (Fig 07).

Il peut être réduit en présence d'hydrogène et transformé en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), c'est la réaction de dismutation catalysée par le superoxyde dismutase (SOD).

En effet,  $\text{H}_2\text{O}_2$  a des propriétés oxydantes faibles et  $\text{O}_2^{\cdot-}$  semble encore moins toxique, mais dont la toxicité provient du fait qu'ils peuvent donner naissance à des composés plus réactifs.

L' $\text{O}_2^{\cdot-}$  réagit avec le  $\text{NO}^\circ$  pour former l'anion peroxyntrite ( $\text{ONOO}^\circ$ ). Celui-ci peut nitrer des protéines au niveau des résidus tyrosines ou engendrer un radical nitrite  $\text{NO}^\circ_2$  et par cette voie, le radical hydroxyle ( $\text{OH}^\circ$ ) espèce plus réactive.

Par ailleurs, l' $\text{H}_2\text{O}_2$  qui n'est pas un radical libre, a la capacité de générer des radicaux hautement réactifs. Il peut engendrer le radical hydroxyle  $\text{OH}^\circ$  très agressif, cette réaction est catalysée par la présence de métaux de transition comme le cuivre ( $\text{Cu}^{+2}$ ) et le fer ( $\text{Fe}^+$ ). En présence d'ion  $\text{Cl}^-$ , l' $\text{H}_2\text{O}_2$  forme l'acide hypochloreux ( $\text{HOCl}$ ), cette réaction est catalysée par la Myéloperoxydase (MPO).

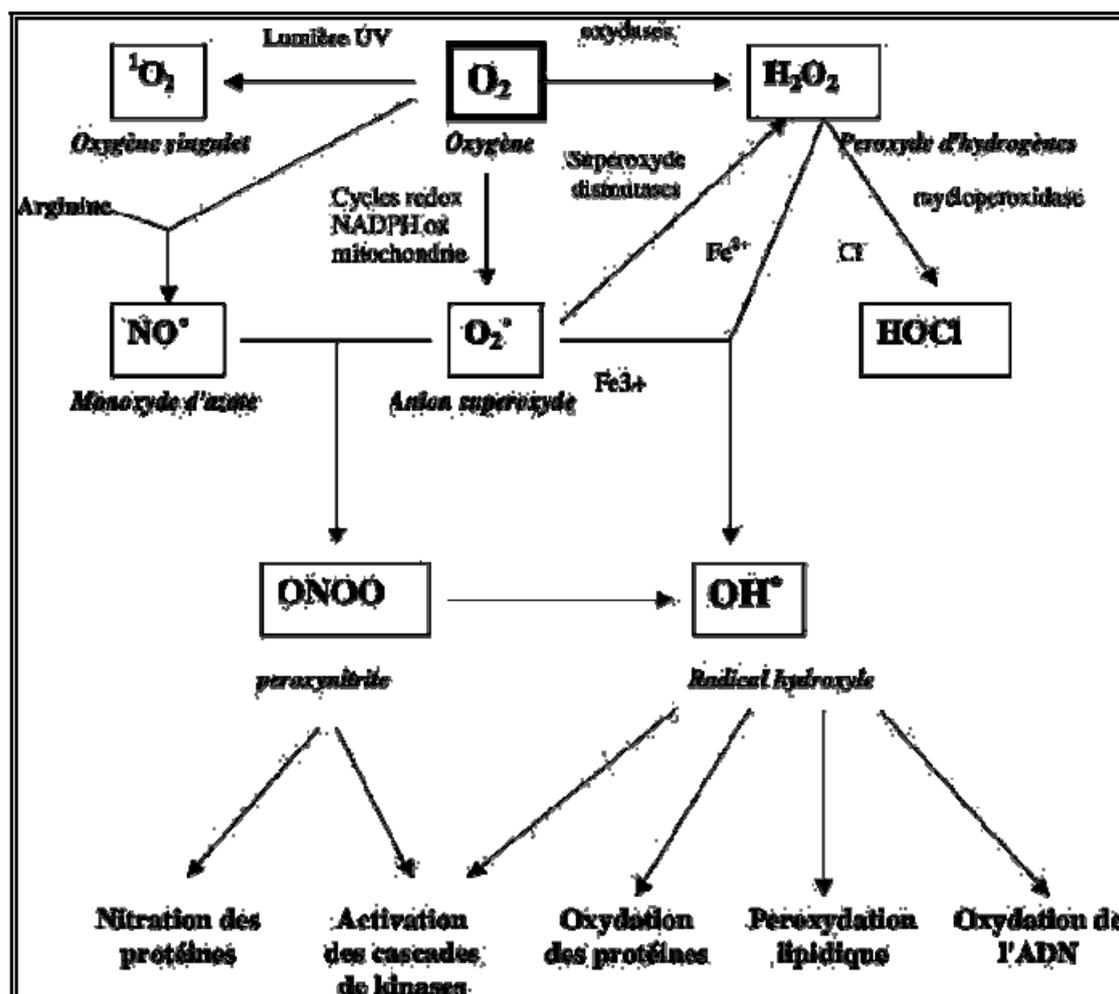


Figure 7 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'Oxygène impliqués en biologie. (Favier A., 2003)

### 2.3. Sources des radicaux libres

Les RL sont générés par le fonctionnement normal de notre organisme (sources endogène), nous pouvons considérer que certaines de ces productions sont volontairement programmées par l'organisme à des fins de défense ou d'envoi des signaux. Mais leur production peut également être stimulée et intensifiée par beaucoup d'éléments extérieurs (sources exogènes) [1]. Tableau07

**Tableau 7 : Principales sources des RL (endogènes et exogène) (Rees M.D et al., 2008).**

<i>Sources endogènes</i>	<i>Sources exogènes</i>
-NADPH oxydase.	-Toxiques environnementaux.
-Chaîne respiratoire mitochondriale.	-Radiations ionisantes.
-Péroxyosomes.	- Radiations UV.
-Cytochrome P <sub>450</sub> .	-Champs électriques..
-Xanthine oxydase.	-Xénobiotiques prooxydants.
-Cyclo-oxygénases.	-Cytokines pro inflammatoires.
-Lipo-oxygénases.	-Tabagisme.
-Phagocytes.	-Chémothérapie.
-Réactions des ions de transition.	-Ozone
-Inflammation	
- Etat d' ischémie-reperfusion	
-Atherogénèse	
-Hémodialyses	
-exercices intensifs.	

#### 2. 3.1. Sources exogènes

Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux tels que la fumée de tabac, pollution diverses, bactéries, produits chimiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds ou certaines carences nutritionnelles. Les rayonnements sont par différents mécanismes des sources de radicaux, qu'il s'agisse des rayons ionisants X ou gamma, ou des rayons ultraviolets (UV) capables de produire l'anion superoxyde ou de l'oxygène singulet.

#### 2. 3.2. Source endogènes

Les RL sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes. Les sources cellulaires d'ERO sont enzymatiques et non-enzymatiques.

❖ **Réactions non-enzymatiques**

Plusieurs molécules sont capables d'activer l'oxygène moléculaire lors des réactions d'auto oxydation. Ces différentes molécules endogènes (acrobate, glutathion réduit, adrénaline, flavines, des thiols par exemple la cystéine...etc.) réagissent spontanément avec l' $O_2$  et sont ainsi oxydées conduisant à la formation de  $O_2^{0-}$ . Le produit direct de ces auto- oxydations est souvent l'anion superoxyde.

❖ **Réactions enzymatiques**

La production des ERO dans les cellules mammifères est essentiellement d'origine enzymatique et découlent dans plusieurs sources possibles (Delattre et al. 2005) (Tableau 07). Il s'agit principalement de :

**a) Les enzymes de la Chaîne respiratoire mitochondriale :**

La mitochondrie est un organe intracellulaire qui est responsable de la majorité de la production de l'énergie sous forme d'ATP pour la cellule. Elle est considérée comme une des principales sources des ERO dans la cellule. Il existe lors du transport d'électrons le long de la chaîne respiratoire mitochondriale, une fuite d'électrons à l'origine de la production d' $O_2^{\bullet}$ .

Dans les conditions physiologiques, la formation de ce radical est liée à l'activité physique et par là même à l'intensité d'oxygénation. Cette production peut s'intensifier lorsqu'interviennent des désordres mitochondriaux génétiques, inflammatoires ou nutritionnels.

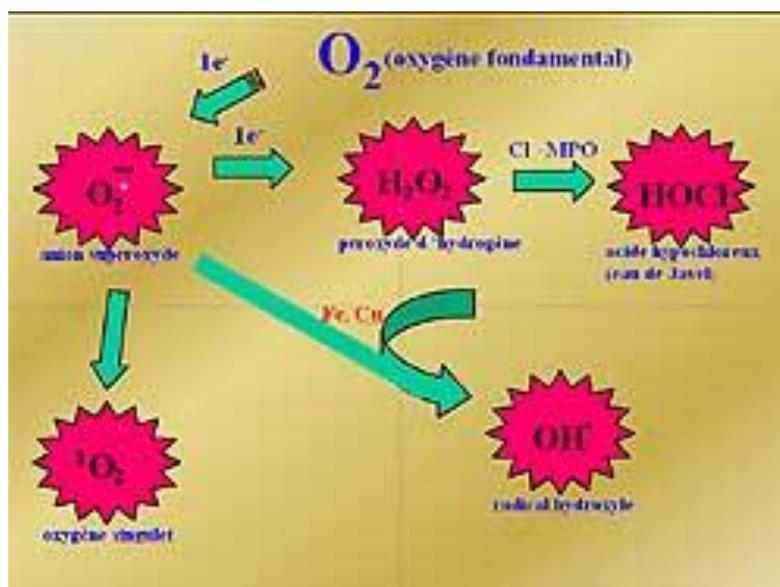
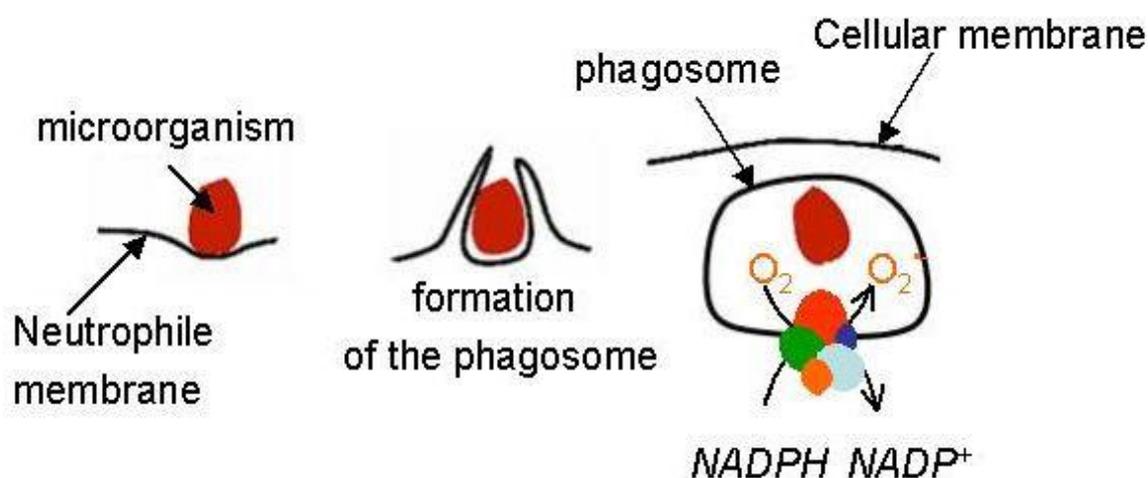


Figure 8 : description des espèces oxygénées activées [16].

**b) Les enzymes pro-oxydantes impliquées dans l'inflammation:**

L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées soumises à un phénomène appelé explosion oxydative, ce phénomène est consécutive à l'activation du complexe enzymatique de la NADPH oxydase, la myéloperoxydase (MPO) et la NO synthases.

NADPH oxydase est une enzyme membranaire (Delatter et al ., 2005), l'activation peut être déclenchée par une stimulation appropriée de la membrane tant par des agents particuliers (bactéries, particules delatex), que par des médiateurs physiologiques de la réaction inflammatoire (facteurs activés du complément, anticorps, cytokines). Cette activation métabolique oxydatif permettant la réduction de l' $O_2$  en  $O_2^{\circ-}$  (Fig 9).



**Figure 9 : L'activation du NADPH oxydase [7].**

En clinique, un déficit génétique de la NADPH oxydase est responsable de la granulomatose septique chronique, une maladie caractérisée par une susceptibilité importante à de nombreuses infections bactériennes et la formation de granulomes (Janeway et al 2008).

Ce mécanisme, lorsqu'il est contrôlé, est capital dans la lutte anti-infectieuse car il permet la phagocytose des bactéries et des corps étrangers (Favier, 2003).

En fait, la puissance des mécanismes microbicides des polynucléaires neutrophiles réside dans leur capacité à former des quantités importantes d'oxydants chlorés (HOCl et chloramines) à partir d' $H_2O_2$  et selon une réaction catalysée par la myéloperoxydase (MPO) libérée lors de la fusion des granules azurophiles avec la membrane du phagosome

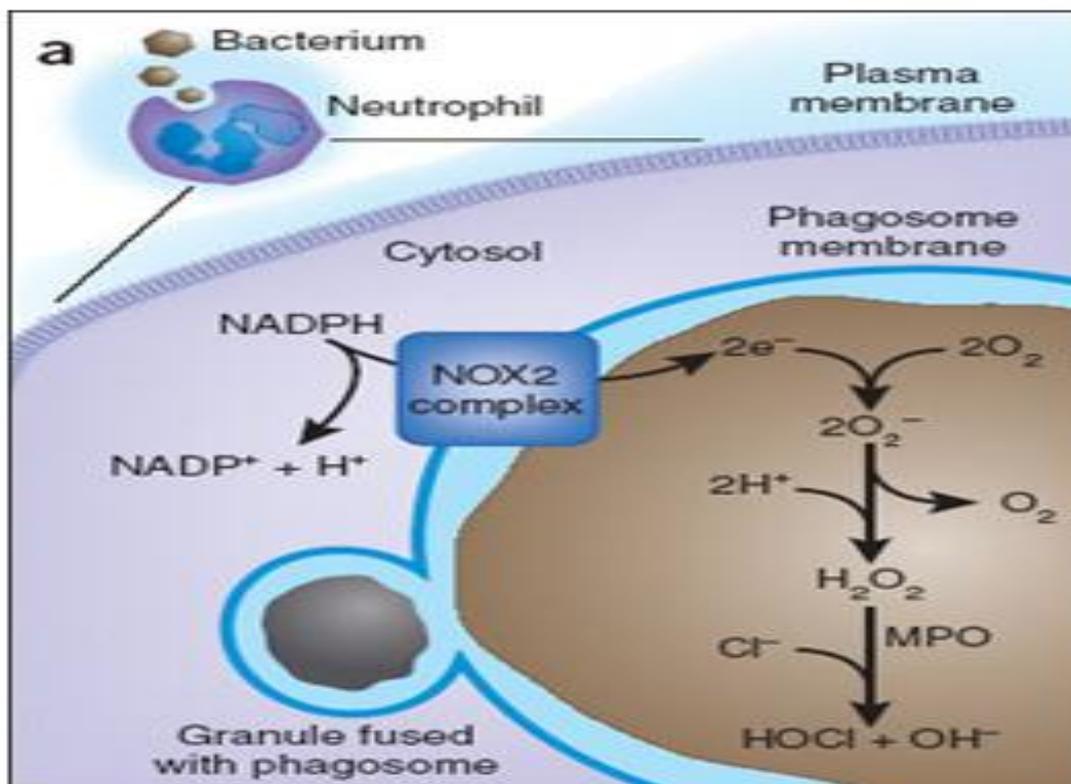


Figure 10 : Génération d'oxydants réactifs par les neutrophiles [2]

synthèses, elle est également présente au sein des monocytes, mais pas des macrophages (Delatter et al 2005). (Fig 10)

L'intérêt actuel pour la MPO au cours du stress oxydant résulte de sa fonction primordiale de transformation d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en autre espèces hautement réactives de l'oxygène (Delatter et al 2005).

Le troisième système enzymatique important dans la génération d'oxydants toxiques bactéricides est la NO synthase, cette enzyme catalyse la conversion de la L-arginine en L-citrulline et monoxyde d'azote (NO<sup>o</sup>) en utilisant le NADPH et l'O<sub>2</sub> comme Co-substrats.

### 3. Mécanismes antioxydants

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui est capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats « D'après Favier et Pequignot (2002) ».

### 3.1. Les antioxydants enzymatiques

Les enzymes antioxydants sont produites par nos propres cellules [3] ont une signification négligeable dans l'espace extracellulaire alors qu'ils jouent un rôle très significatif dans l'espace intracellulaire. On note principalement :

Les enzymes responsables de la dimutation de l'anion superoxyde, ce sont les superoxydes dismutases (SOD), les enzymes agissent sur les peroxydes, c'est la catalase (CAT), et les glutathion peroxydase, ainsi que les enzymes intervenant dans la protection des protéines à fonction thiol, c'est la thiorédoxine (Fig 11).

**Tableau 8 : Les antioxydants enzymatiques et leurs caractéristiques (Beaudeau J et al., 2005)**

<i>Antioxydants enzymatiques</i>	<i>Caractéristiques et réaction catalysée.</i>
<p><u>Superoxyde dismutase SOD :</u>                      - Cu, Zn SOD1                      - Mn SOD2                      - Cu, Zn SOD3</p>	<p>Appartient à la famille des métalloenzymes, possède trois isoenzymes : SOD1, SOD2 intracellulaires et SOD3 extracellulaire, catalyse la dismutation de l'ion superoxyde.</p> $\text{O}_2^{\circ-} + \text{O}_2^{\circ-} \xrightarrow{2\text{H}^+} \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$ <p>C'est une enzyme hémique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.</p> $2 \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
<p><u>La catalase :</u></p>	
<p><u>Les glutathion peroxydases :</u>                      -GPx sélénium- indépendant (GST) :                      -GPx sélénium-dépendant</p>	<p>- La GST catalyse les réactions de détoxification des xénobiotiques.                      - Présente sous forme de 5 isoenzymes tétramériques, agissant sur les peroxydes d'hydrogène et les hydroperoxydes lipidiques par l'intermédiaire de GSH.</p>
<p><u>La thiorédoxine TRX</u></p>	<p>-Sélénoprotéine, à activité oxydoréductase, protectrice des protéine à fonction thiol :</p> $\text{Trx-S}_2 + \text{NADPH.H}^+ \xrightarrow{\text{TrxR}} \text{Trx-(SH)}_2 + \text{NADP}^+$ $\text{Protéine-S}_2 + \text{Trx-(SH)}_2 \longrightarrow \text{Protéine-SH}_2 + \text{Trx-S}$

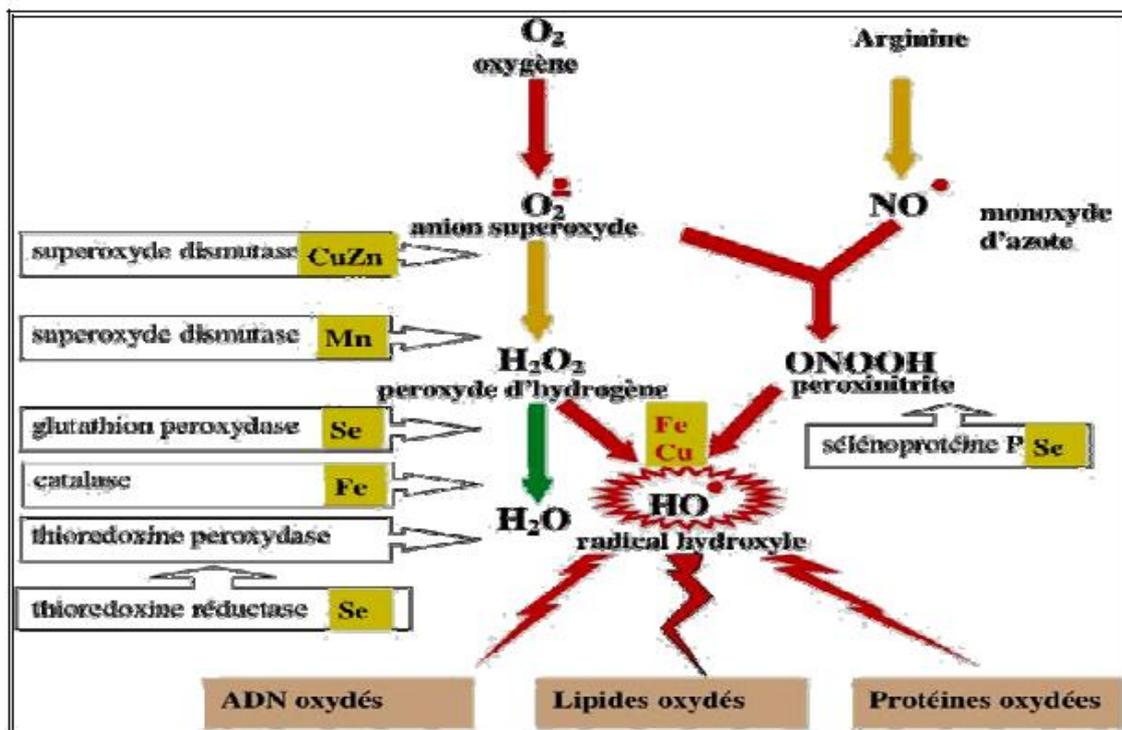


Figure 11 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatique antioxydant et de leur cofacteurs métalliques (Matés, 1999).

### 3.2. Les antioxydants non enzymatiques

Principaux systèmes antioxydants non enzymatique protéique dans l'organisme humain comprennent la transferrine, l'apotransferrine, la ceruloplasmine, et l'albumine (Favier, 2003).

Les éléments constitutifs de ce potentiel antioxydant peuvent être aussi distingués selon leur nature chimique (protéique ou non) et selon leur origine endogène ou exogène (apport par l'alimentation par exemple). (Tableau 09 et 10)

**Tableau 9 : Principaux systèmes antioxydants non enzymatiques protéiques  
(BeaudeauJ.L et al. 2005).**

<i>Antioxydants non enzymatiques</i>	<i>Rôle antioxydant</i>
<u>La transferrine :</u>	Capte les ions $Fe^{3+}$ et bloque les réactions de la peroxydation lipidique
<u>L'apotransferrine :</u>	Capte les ions $Fe^{3+}$ et inhibe la formation du radical $HO^\circ$ et les réactions de la peroxydation lipidique.
<u>La ceruloplasmine :</u>	Capte les ions $Cu^{2+}$ et prévient leur effet prooxydant.
<u>L'albumine :</u>	Intégration des ions $Cu^{2+}$ à l'hème en évitant les dommages oxydatifs des autres molécules de la matrice extracellulaire.

### **3.3. Antioxydants à faible poids moléculaires (L.M.W)**

Nous n'évoquerons dans cette partie que les propriétés antioxydantes de certains composés à faibles poids moléculaires (micronutriments et dérivés métaboliques) (Tableau10), cependant nous devons garder à l'esprit que ces composés ont d'autres rôles biochimiques qui s'étendent bien au-delà de leurs propriétés antioxydantes.

**Tableau 10 : Propriétés antioxydantes de certains composés à faibles poids moléculaires.**

<b>Antioxydant :</b>	<b>Activité antioxydante :</b>
<b>La vitamine E :</b>	prévention de l'oxydation des LDL l'athérosclérose et d'autres maladies cardiovasculaires.
<b>La vitamine C :</b>	recyclage de la vitamine E et le glutathion.
<b>L'acide lipoïque :</b>	Inhibiteur de la glycooxydation, prévention de la lipodystrophie et la neuropathie médullaire par les ROS.
<b>L'acide urique :</b>	Piégeur puissant des radicaux: $O_2^{\circ -}$ , $^{\circ}OH$ , $RO_2^{\circ}$
<b>Le sélénium :</b>	Nécessaire à l'activité de nombreuses sélénoenzymes antioxydantes :GPx, TRX...etc.
<b>Co enzyme Q :</b>	Piégeur puissant des radicaux superoxyde et inhibiteur de la peroxydation lipidique.
<b>Le glutathion :</b>	Participant à l'activité des enzymes antioxydantes. Capture des espèces radicalaires (Beaudeau J.L., 2005). <b><math>GSH + R^{\circ} \rightarrow GS^{\circ} + RH</math></b>
<b>Le zinc :</b>	La prévention des effets toxiques dus aux radicaux libres est primordiale. le maintien de la SOD qui est un piègeur capital des ions superoxydes.
<b>La bilirubine :</b>	Protection des acides gras libres et de l'albumine contre l'attaque radicalaire. (Beaudeau J.L., 2005).
<b>B-carotènes :</b>	Contrôlent efficacement la génération de radicaux libres notamment en captant l'oxygène singulet. (Beaudeau J.L., 2005) : <b><math>O_2^1 + B\text{-carotènes} \rightarrow B\text{-carotènes} + O_2</math></b>

***Chapitre III***  
***La relation entre les  
mycotoxines et stress  
oxydant***

Le blé est à la base de l'alimentation humaine et animale, que celui-ci soit consommé sous forme brute ou transformée (pain, pâtes, biscuits). Les nutritionnistes attirent l'attention des consommateurs sur l'intérêt nutritionnel que présente la consommation des couches périphériques du grain. Cependant, c'est également en périphérie du grain que sont concentrés divers polluants chimiques (pesticides, insecticides) ou biologiques comme des bactéries, certaines moisissures et des mycotoxines. La présence de ces mycotoxines dans les denrées alimentaires constitue un risque sanitaire non négligeable, et, est responsable de pertes économiques importantes. Leur présence reste difficilement contrôlable malgré les efforts réalisés pour limiter les contaminations

### **1. Devenir de l'ochratoxine A dans l'organisme**

Le devenir de l'OTA dans l'organisme implique son absorption, sa distribution dans les tissus et les organes, les voies de sa biotransformation ainsi que son excrétion.

L'OTA est absorbée tout d'abord au niveau de l'estomac en raison de ses propriétés acides. Les groupements hydroxyle et carboxylique jouent un rôle important dans la mesure où, pour un pH bas, la forme non ionisée favorise l'absorption de l'OTA. L'OTA est aussi absorbée dans l'intestin grêle au niveau du jéjunum proximal. Une fois absorbée, l'OTA est distribuée aux différents organes via le système porte et le foie. Chez l'animal, l'OTA s'accumule abondamment dans les reins et de moindre ampleur au niveau d'autres organes (foie, muscle, tissus adipeux et cerveau).

L'OTA possède une très grande affinité pour certaines protéines plasmatiques, en particulier l'albumine sérique, ce qui constitue une réserve mobile de la toxine et prolonge sa demi-vie plasmatique en contribuant aux effets toxiques chroniques (AFSSA, 2006). De plus, l'OTA possède un cycle entérohépatique responsable en partie de sa longue demi-vie dans l'organisme. Chez les humains, l'OTA possède la plus longue demi-vie dans le plasma qui est estimée à un mois.

Par ailleurs, l'OTA se biotransforme principalement par hydrolyse de la liaison peptidique ou bien par des réactions de métabolisation durant deux phases : phase I (fonctionnalisation ou bioactivation) et phase II (conjugaison). La Figure 11 illustre la biotransformation que peut subir l'OTA.

D'une part, l'OTA est hydrolysée en OT $\alpha$  non toxique par la carboxypeptidase A et la chymotrypsine ainsi que par les microorganismes du tube digestif (rumen des polygastriques et gros intestin chez toutes les espèces). Cette détoxification réduit le risque de contamination

par l'OTA des produits issus des animaux. En revanche, un dérivé lactone de l'OTA, le OP-OTA, a été obtenu par hydrolyse de l'OTA en solution basique (NaOH 0.5 N) . Ce métabolite est hautement toxique et sa clairance est beaucoup plus lente que celle de l'OTA et l'OT $\alpha$  .

D'autre part, l'OTA est hydroxylée au niveau hépatique par le système microsomal des monooxygénases à cytochrome P450 chez différentes espèces .L'OTA se transforme en des métabolites mineurs non toxiques comme les 4R- et 4S-hydroxyochratoxine A (4- OH-OTA) et la 10-hydroxyochratoxine A. L'OTA peut être aussi métabolisée en un dérivé déchloriné, l'OTB, qui est moins toxique que l'OTA aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*. Cependant, des dérivés très réactifs tels que le O-CH<sub>3</sub>-OTA et les dérivés quinones OTAQ/OTAHQ issus de l'oxydation chimique et enzymatique (essentiellement par le système microsomal à cytochrome P450) sont impliqués dans la toxicité de l'OTA par induction de stress oxydant.

En ce qui concerne les réactions de détoxification, l'OTA subit essentiellement au niveau du foie des glucurono-et sulfoconjuguaisons par l'uridine-diphosphate glucuronosyltransférase et la sulfo-transférase respectivement. L'OTA peut être aussi détoxifiée par conjugaison au glutathion réduit (GSH) catalysée par des enzymes cytosoliques comme les glutathion-S-transférases.

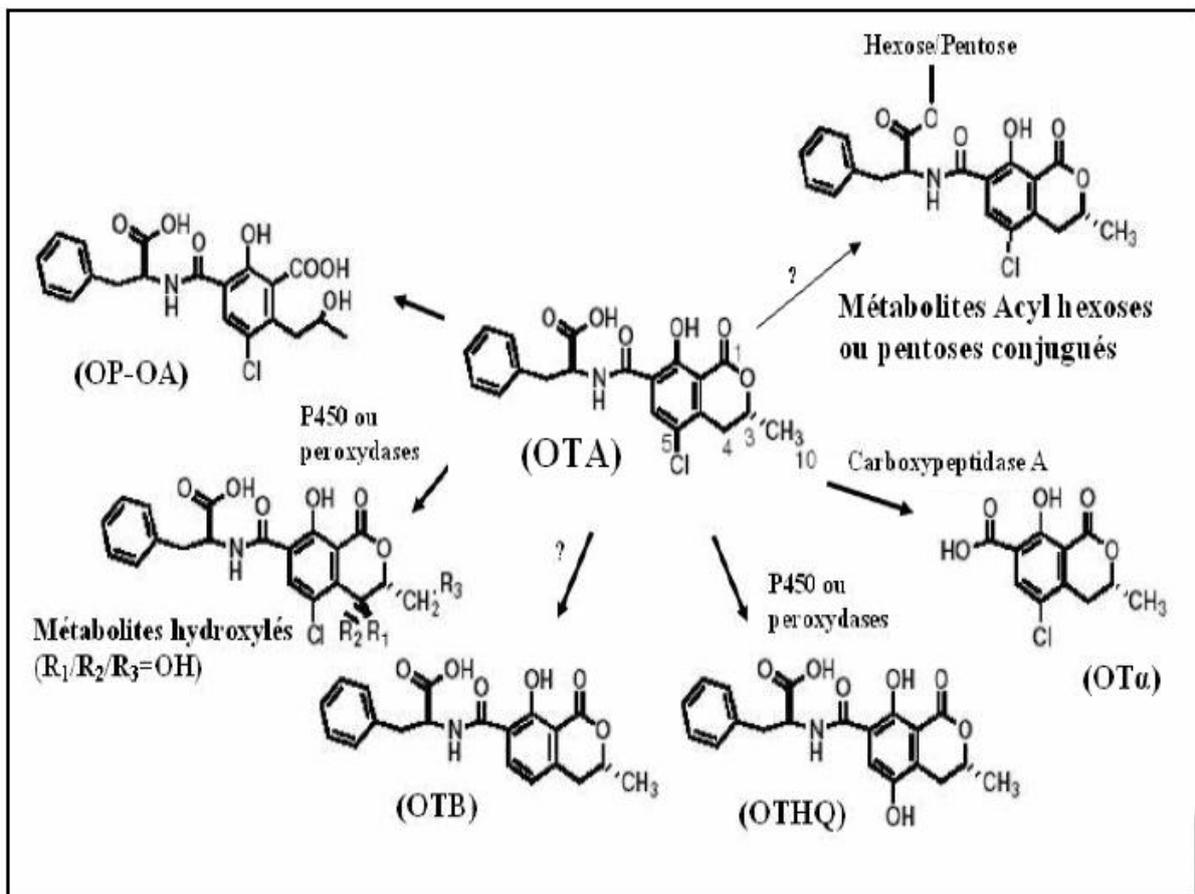


Figure 12 : Schéma de la métabolisation de l'ochratoxine A

(Pfohl-Leszkowicz & Manderville, 2007).

Quant à l'excrétion de l'OTA, les voies urinaire et biliaire jouent un rôle très important dans la clairance plasmatique de l'OTA. Cette toxine est éliminée très lentement de l'organisme chez certaines espèces animales, alors que ses métabolites sont éliminés beaucoup plus rapidement. En général, l'OTA et l'OT $\alpha$  sont excrétées dans les urines chez le rat alors que l'OH-OTA est excrétée dans la bile.

La réabsorption de l'OTA ralentit son excrétion et explique son accumulation au niveau du tissu rénal et par conséquent sa néphrotoxicité (Ringot *et al.*, 2006). En outre, l'excrétion lactée semble être une voie d'élimination relativement efficace chez les mammifères. L'OTA s'est révélée présente dans le lait humain en corrélation avec la contamination des denrées alimentaires.

## 2. Toxicité de l'Ochratoxine A

La toxicité de l'OTA est due à sa structure chimique : son atome de chlore et son groupement phénolique ainsi que sa partie isocoumarinique jouent un rôle important.

L'OTA a été impliquée dans plusieurs mécanismes toxiques, incluant des effets néphrotoxiques, mutagènes, tératogènes, neurotoxiques, hépatotoxiques, immunotoxiques et cancérigènes. En effet, l'OTA exerce de nombreux effets délétères sur différents organes : le rein est l'organe cible de l'action toxique de l'OTA mais celle-ci pourra également toucher le foie, le coeur ou les intestins.

### 2.1. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë d'une substance implique les effets toxiques qui surviennent dans un temps court (24, 48, 72 heures jusqu'à 2 semaines) après administration d'une dose unique ou de doses répétées dans un temps bref. L'étude de la toxicité aiguë permet de calculer la dose létale 50 ou DL50, qui est la dose de la substance entraînant la mort de 50% des animaux traités.

La toxicité de l'OTA est très variable chez l'animal (Tableau 11). Elle dépend de l'espèce, du sexe et de la voie d'administration (Creppy *et al.*, 1995b). L'exposition des animaux à l'OTA se traduit, d'un point de vue économique, par des pertes importantes au niveau de la production. A titre d'exemple, on note chez les poules une réduction de la ponte accompagnée d'une baisse de la prise d'aliments.

Tableau 11 : Toxicité relative de l'ochratoxine A (Creppy *et al.*, 1995b)

Animal	DL <sub>50</sub> (mg/kg poids)	Voies d'administration
Souris femelle	22	administration intrapéritonéale
Rat mâle et femelle	12,6-14,3	administration intrapéritonéale
Souris mâle	51-68	administration orale
Rat mâle et femelle	21,4-30,3	administration orale
Dinde	5,9	administration orale

## 2.2. Toxicité subchronique

La toxicité subchronique permet la mise en évidence d'effets toxiques après l'administration répétée quotidienne ou fréquente d'une ou plusieurs doses faibles de la substance à tester. La durée n'excède pas 90 jours.

De nombreuses études de toxicité à 90 jours ont été réalisées sur le rat, avec des doses variant de 15 µg à 370 µg/kg de poids corporel et par jour. Avec ces doses, la fonction rénale est altérée par la toxine qui provoque, en effet, des lésions morphologiques et histologiques au niveau du tube contourné proximal.

D'autres études réalisées sur le rat montrent au niveau du tissu interstitiel des dégénérescences progressives avec des états de mégacytose et de caryomégalie.

## 2.3. Toxicité chronique

Les effets chroniques de l'OTA sont fréquents. Cette toxine s'est avérée néphrotoxique, hépatotoxique, tératogène et immunotoxique chez plusieurs espèces animales et cancérigène chez la souris et le rat induisant des tumeurs rénales et hépatiques.

Chez les animaux atteints de néphropathie, les reins deviennent pâles et augmentent considérablement de taille. ont mis en évidence une augmentation significative dans l'urine de trois enzymes spécifiques (phosphatase alcaline, leucine aminopeptidase et  $\gamma$ -glutamyl transférase), chez des rats traités par gavage avec 290 µg d'OTA/kg p.c., tous les 2 jours pendant 8 à 12 semaines. Des lésions dégénératives sur l'ensemble du système tubulaire ont été observées chez le rat après exposition subchronique à l'OTA par la voie orale (AFSSA, 2006).

En outre, l'OTA est considérée comme un cancérigène rénal suite à une exposition à long terme. Elle a été classée dans le groupe 2B « cancérigène possible pour l'homme » par L'Agence Internationale pour la Recherche sur le Cancer (IARC, 1993).

L'implication de l'OTA dans le développement de différents types de cancer à savoir les adénocarcinomes rénaux, le cancer des testicules et les tumeurs hépatiques a été rapporté chez le rat, la souris mais aussi chez l'homme.

L'OTA peut provoquer des néoplasmes avec une prédominance chez les rats mâles, des modifications rénales non néoplasiques, comme des hyperplasies, des proliférations cellulaires, des altérations cytoplasmiques, des caryomégalies au niveau des cellules tubulaires et des dégénérescences de l'épithélium tubulaire.

#### **2.4. Néphrotoxicité**

Le rein constitue l'organe cible principal des effets toxiques induits par l'OTA. Cette toxine est potentiellement néphrotoxique chez toutes les espèces étudiées, à l'exception des ruminants adultes.

Chez l'animal, une néphropathie porcine et aviaire a été associée à une contamination de l'alimentation animale par l'OTA. Des lésions rénales chez le poulet ont aussi été observées suite à l'ingestion de cette mycotoxine. (Krogh ,1972) a montré des similitudes entre la néphropathie porcine et la NEB et suggère que l'OTA est l'un des agents qui pourrait jouer un rôle important dans l'étiologie de cette maladie.

Plusieurs investigations ont rapporté l'implication de l'OTA dans des néphropathies humaines telles que la Néphropathie Endémique des Balkanes (NEB) et la néphropathie interstitielle chronique en Afrique du Nord ainsi que dans les tumeurs du tractus urinaire (O'Brien & Dietrich, 2005).

La NEB est une néphropathie interstitielle chronique diagnostiquée chez les adultes avec une prédominance chez les femmes. La pathologie évolue lentement et souvent de façon asymptomatique pour atteindre l'insuffisance rénale. Les premiers stades de la NEB sont caractérisés par une protéinurie, une glucosurie, une anémie et une altération de la capacité à concentrer l'urine. Dans les stades les plus avancés, les reins apparaissent atrophiés et leur poids diminue dramatiquement. Les caractéristiques pathologiques incluent une fibrose du tissu interstitiel, une atrophie et une sclérose corticale, accompagnées d'une dégénérescence cellulaire du tube proximal et des lésions vasculaires et glomérulaires. La NEB est associée à une fréquente augmentation des tumeurs du tractus urinaire chez les patients néphropathes.

#### **2.5. Hépatotoxicité**

L'OTA a également pour cible le foie où elle sera biotransformée et détoxifiée. L'OTA s'est montrée hépatotoxique aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*.

Au niveau des mitochondries hépatiques, l'OTA inhibe compétitivement la cytochrome C oxydase, la succinate déshydrogénase et l'ATPase. L'hépatotoxicité induite par l'OTA semble être aussi due à l'altération de la balance oxydo-réductrice. L'administration orale de l'OTA à des souris augmente l'incidence de tumeurs hépatiques (Bendele *et al.*, 1985).

## **2.6. Neurotoxicité**

Le système nerveux central semble être très sensible aux effets délétères de l'OTA. Plusieurs études ont mis en évidence les effets neurotoxiques de l'OTA chez la souris, le rat et le lapin (Sava *et al.*, 2006). En effet, les nouveaux nés (rat, souris) exposés, *in utero*, à l'OTA montrent une microcéphalie ainsi qu'une modification des niveaux d'acides aminés libres au niveau du cerveau. L'OTA peut également provoquer des perturbations neurochimiques telle que la réduction des niveaux de dopamine (Sava *et al.*, 2006).

## **2.7. Immunotoxicité**

De nombreuses études ont montré que l'OTA est un puissant immunosuppresseur *in vitro* et *in vivo*. L'OTA peut inhiber la prolifération des lymphocytes périphériques T et B, abolir la production d'interleukine 2 et de ses récepteurs (Lea *et al.*, 1989), diminuer la production d'anticorps (IgG, IgM, IgA) et supprimer l'activité de cellules tueuses et la production d'interféron.

En revanche, l'OTA semble exercer un effet immunostimulateur par l'induction de cytokines (médiateurs proinflammatoires) tel que le TNF $\alpha$  (Facteur de nécrose de tumeur) hépatique.

## **2.8. Tératogénicité**

L'OTA est tératogène chez l'animal par induction d'anomalies diverses y compris une mortalité foetale, une perte de poids des foetus, une réduction de la taille des portées, des retards de croissance et des anomalies des viscères et du squelette touchant en particulier les membres et le cou.

## **3. Mécanismes d'action de l'Ochratoxine A**

La phase toxicodynamique de l'OTA concerne son interaction avec des cibles cellulaires et moléculaires, responsables d'altérations métaboliques, cellulaires et moléculaires.

**3.1. Interaction avec le métabolisme de la phénylalanine**

L'ochratoxine A affecte la synthèse des macromolécules cellulaires telles les acides nucléiques mais principalement la synthèse protéique.

En raison de son groupement phénylalanine, l'OTA agit comme un analogue structural de cet acide aminé ce qui explique son action sur les voies métaboliques impliquant la phénylalanine. En effet, l'OTA perturbe la synthèse protéique chez les procaryotes et les eucaryotes par inhibition compétitive de la partie phénylalanine d'une enzyme Phe-tRNA Phe synthase impliquée dans la réaction d'aminocyclation du tRNAPhe. Ainsi, l'élongation peptidique est bloquée et la synthèse protéique est arrêtée au niveau post-transcriptionnel. Bien que cette inhibition compétitive associée à la partie Phe ait été considérée comme la cause majeure de la toxicité de l'OTA, des travaux ultérieurs ont montré que des modifications mineures de la partie isocoumarinique de l'OTA provoquent des effets toxiques significatifs.

Suite à l'inhibition de la synthèse protéique, l'OTA perturbe l'activité de plusieurs enzymes cellulaires, particulièrement, la phospho-enol-pyruvate carboxylase cytosolique (PEPCK), enzyme clé de la régulation de la néoglucogénèse. Ceci affecte indirectement le métabolisme des carbohydrates.

Par ailleurs, l'OTA peut inhiber la Phe-hydroxylase hépatique catalysant l'hydroxylation irréversible de la Phe en Tyrosine, étape clé dans la régulation du catabolisme de cet acide aminé. L'OTA peut agir comme un substrat à la Phe-hydroxylase en se fixant à son site actif grâce à sa partie Phe (Richardson & Fisher, 1993)

**3.2. Effets sur le métabolisme des glucides**

L'OTA génère une baisse de 25 % de la néoglucogénèse rénale (qui constitue une des voies majeures du métabolisme des glucides au niveau rénal) chez des rats traités à 2 mg d'OTA/kg de nourriture pendant deux jours. Cet effet provient de l'inhibition par l'OTA de la synthèse d'ARN messager codant pour la phosphoénol pyruvate carboxykinase (PEPCK). Une telle baisse d'activité de cette enzyme a été aussi constatée par Meisner & Selanik, 1979 ; Meisner & Cimbala, 1986) .

L'OTA peut avoir un effet hyperglycémiant, lié d'une part à la stimulation de la glycolyse et d'autre part à la formation de glucose à partir d'autres nutriments et notamment d'acides aminés glucoformateurs (Verma & Shalini, 1998).

**3.3. Effets sur le métabolisme des lipides**

Il a été montré que l'OTA augmentait la peroxydation lipidique (PL) *in vivo* et *in vitro*. Ceci pourrait expliquer l'effet nécrosant de l'OTA au niveau du rein puisque la peroxydation des acides gras polyinsaturés inclus dans les membranes phospholipidiques a été proposée comme mécanisme d'action de nombreux xénobiotiques à l'origine d'altérations tissulaires structurales. (Meki et Hussein , 2001), ont montré que l'utilisation de mélatonine (connue pour son pouvoir antioxydant), réduisait le stress oxydatif généré par l'OTA au niveau rénal et hépatique dans des rats mâles *Sprague-Dawley*.

Cette PL mène de plus à une modification de l'homéostasie calcique hépatique et rénale, avec une augmentation du taux de calcium cytosolique .

**3.4. Perturbation de l'homéostasie calcique**

L'augmentation de la peroxydation lipidique membranaire induite par l'OTA perturbe la perméabilité membranaire du calcium, ayant pour conséquences l'altération de l'homéostasie calcique .(Hoehler et al ,1997) suggèrent que l'accumulation intracellulaire du calcium en présence de l'OTA peut participer au découplage de la phosphorylation oxydative engendrant la fuite des électrons de la chaîne respiratoire responsables de la génération de radicaux libres.

L'OTA semble agir sur les signalisations cellulaires et hormonales dépendantes du calcium ayant pour conséquence l'altération de la prolifération cellulaire .L'OTA peut aussi inhiber la communication intercellulaire à travers les jonctions de type Gap connues pour leur importance dans le contrôle épigénétique des gènes .

**3.5. Inhibition de la respiration mitochondriale**

La perturbation du fonctionnement mitochondrial est un évènement précoce durant l'intoxication par l'OTA. Cette toxine semble inhiber la respiration mitochondriale et par conséquent la production d'ATP. Ce phénomène peut être expliqué soit par l'inhibition du transport mitochondrial du phosphate, soit par action directe sur la chaîne du transport d'électrons suite à l'inhibition de la succinate déshydrogénase supportant le transport des électrons (Ringot *et al.*, 2006).

L'altération des fonctions mitochondriales pourrait être attribuée à la partie ouverte du lactone de l'OTA, analogue structural au site actif des enzymes mitochondriales, ce qui contribue à la toxicité de cette toxine.



Oligomycine : inhibition de la synthèse d'ATP

Dinitrophénol ou DNP : découplage

**Figure13 : Découplage de la chaîne respiratoire et de la synthèse d'ATP [19].**

### 3.6. Production d'espèces réactives oxygénées et stress oxydant

L'inhibition de la synthèse protéique, à elle seule, ne peut pas expliquer la diversité des effets toxiques de l'OTA à savoir la peroxydation lipidique, les dommages d'ADN et la perturbation de l'homéostasie calcique. Plusieurs études suggèrent l'implication d'un stress oxydant dans la toxicité de l'OTA (Ringot *et al.*, 2006).

Le stress oxydant induit par un xénobiotique peut causer soit des dommages oxydatifs cellulaires directs suite à la génération excessive d'agents oxydants puissants appelés radicaux libres tels que le radical superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle, soit une réduction de la transduction des signaux cellulaires et la régulation de l'expression de certains gènes impliqués dans la promotion de l'apoptose (mort cellulaire programmée). Le stress oxydant se manifeste aussi par l'altération de l'activité cellulaire antioxydante (Ringot *et al.*, 2006).

A ce propos, l'OTA semble réduire de façon significative le taux du glutathion réduit (GSH), un antioxydant non enzymatique, ce qui reflète une altération de la balance oxydoréductrice. L'OTA peut aussi induire l'expression de certains gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant.

Plusieurs travaux ont confirmé davantage l'implication du stress oxydant dans la toxicité de l'OTA en montrant que le traitement avec des agents antioxydants tels que l' $\alpha$ -tocophérol (vit E), le rétinol, les anthocyanines et l'acide rosmarinique diminue considérablement la toxicité de l'OTA. En revanche, les niveaux de protéines du choc thermique (HSP70), biomarqueurs du stress oxydant, n'ont pas été affectés par la présence de l'OTA sur des cellules hépatiques humaines HepG2 et des cellules rénales de singe Vero.

### 3.7. Induction de la mort cellulaire

Si les dommages cellulaires induits par l'OTA ne sont pas réparés ou contrecarrés, ils peuvent induire la mort cellulaire qui peut se produire par nécrose ou par apoptose aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. A des concentrations de l'ordre de nanomolaires, l'OTA peut induire l'augmentation de l'activité de la caspase-3, la fragmentation de l'ADN et la condensation de la chromatine, ce qui reflète l'effet apoptotique de cette toxine. L'utilisation de la technique des puces à l'ADN a montré que l'OTA module la transcription de certains gènes impliqués dans l'apoptose (annexine V et clusterine).

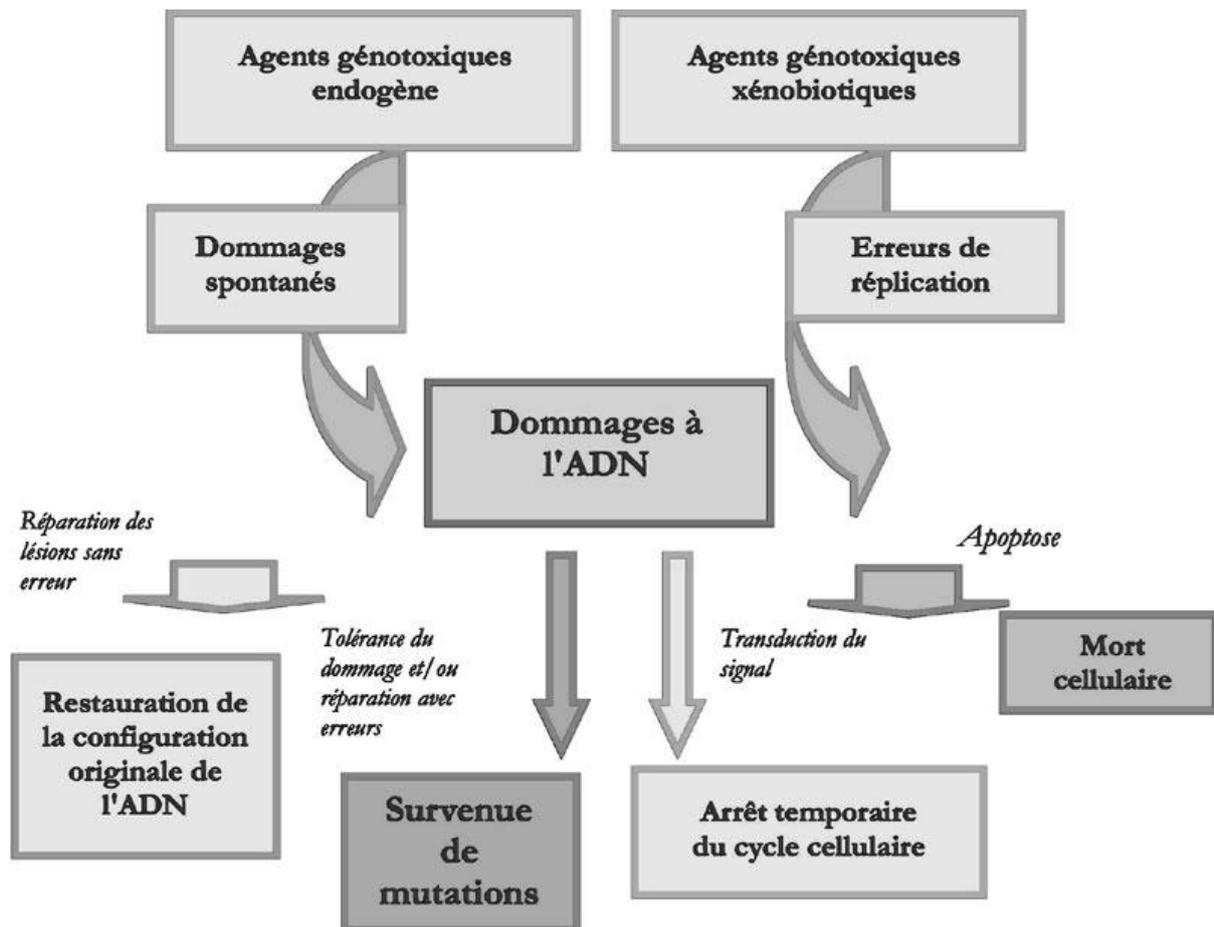


Figure 14 : Représentation schématique de différentes réponses cellulaires consécutives à des lésions occasionnées à l'ADN [18].

### 3.8. Génotoxicité et mutagénicité

Contrairement aux effets toxiques largement élucidés, les données sur les effets génotoxiques de l'OTA sont insuffisantes voire contradictoires.

Ainsi, la plupart des études de mutagénicité utilisant le test d'Ames sur *Salmonella typhimurium* TA 98 et TA102, en présence ou non, de systèmes de métabolisation (sur nageants S9 de foie de rats), n'ont pas démontré le potentiel mutagène de l'OTA. Cependant, le potentiel mutagène de l'OTA a été révélé sur des souches de *Salmonella typhimurium* TA 100, TA 1535 et TA 1538, en présence de microsomes de reins de rats ou du milieu de culture d'hépatocytes exposées à l'OTA.

De même, le potentiel génotoxique de l'OTA a été prouvé par la mise en évidence de cassures simples brins de l'ADN, par l'échange de chromatides soeurs, par la formation de micronoyaux et d'adduits à l'ADN. Des adduits ont été détectés à l'ADN de tumeurs rénales et de tumeurs de vessie d'individus Bulgares souffrant de NEB.

#### **4. Les différentes stratégies de lutte contre les mycotoxines**

La présence inévitable et imprévisible des mycotoxines dans les denrées alimentaires entraîne des problèmes économiques tout au long de la chaîne alimentaire et peut poser des problèmes sanitaires aussi bien chez l'animal que chez l'Homme. Ainsi, il est primordial de développer des mesures afin de contrôler la contamination de la chaîne alimentaire.

Des stratégies de lutte contre les moisissures et leurs toxines sont mises en place, y compris :

- Des stratégies préventives destinées à réduire ou inhiber la prolifération fongique ainsi que la biosynthèse de mycotoxines ;
- Des stratégies préventives des mycotoxicoses ;
- La décontamination des denrées alimentaires contaminées par élimination, destruction ou inactivation des mycotoxines présentes sur la matrice.

##### **4.1. Les stratégies préventives des contaminations**

Une bonne compréhension des facteurs favorables à l'infection, à la croissance et à la production de toxines est une condition indispensable pour la mise au point de stratégies préventives contre la contamination mycotoxique des produits agricoles.

Le « Codex Alimentarius » recommande des pratiques pour la réduction de la contamination mycotoxique au niveau des denrées alimentaires, en particulier les céréales.

Les bonnes pratiques agricoles représentent la première ligne de défense contre la contamination des céréales par les mycotoxines, suivie par la mise en oeuvre de bonnes

pratiques de fabrication durant la manutention, l'entreposage, la transformation et la distribution des céréales destinées à l'alimentation humaine et animale.

En outre, l'utilisation de systèmes intégrés de contrôle (HACCP : Hazard Analysis and Control Critical Point) pourrait être une bonne stratégie de lutte, basée sur la mise en évidence des points à risque et le contrôle des points critiques à tous les stades de production, du champ jusqu'au consommateur (Codex Alimentarius Commission, 2002). Ceci permettra la gestion du risque et le développement des méthodes de suivi et de vérification.

En effet, les champignons peuvent produire les mycotoxines en plein champ, au cours de la récolte et pendant le stockage et la transformation industrielle de la matière première (European Commission report, 1999).

Ainsi, le contrôle de l'imprégnation mycotoxique des denrées alimentaires, du champ à l'assiette du consommateur, repose sur des stratégies de contrôle précédant la récolte, pendant la récolte et après la récolte.

#### **4.2. Stratégies de contrôle précédant la récolte**

Plusieurs stratégies agronomiques se sont développées pour réduire le risque de l'invasion fongique et la production des mycotoxines en plein champ. Certains facteurs, durant la période qui précède la récolte, peuvent avoir une incidence sur les concentrations d'ochratoxine A dans les grains récoltés, notamment les dégâts dus au gel, la présence de champignons concurrents, les précipitations excessives et le stress dû à la sécheresse.

Cependant, une bonne préparation du champ avant semaison par l'élimination de tout résidu propice à la croissance de champignons producteurs de mycotoxines et la rotation des cultures permettront de réduire l'inoculum au champ et son transfert aux récoltes qui s'en suivent.

Parmi les bonnes pratiques préventives de la survenue d'une contamination fongique et mycotoxique au champ, nous citons la sélection de variétés végétales adaptées et résistantes à l'attaque des ravageurs et à l'invasion fongique, la fertilisation appropriée du sol (besoins nutritionnels), le maintien d'un environnement dépourvu de mauvaises herbes (désherbage), l'utilisation efficace de biocides (fongicides, pesticides, insecticides) et l'irrigation raisonnée.

Alternativement, la pré-inoculation de l'hôte ainsi que l'introduction au champ de microorganismes biocompétitifs (bactéries, champignons et levures antagonistes non toxigènes) se sont montrées capables de réduire la contamination par les mycotoxines (Cleveland *et al.*, 2003).

### **4.3. Stratégies de contrôle pendant la récolte**

Afin de lutter contre la contamination par les mycotoxines pendant la récolte, il est recommandé de contrôler l'humidité et de tenir en compte la maturation des graines ainsi que les méthodes de récolte pour éviter l'endommagement (porte d'entrée aux champignons toxigènes) des produits agricoles. Les grains devraient être récoltés à pleine maturité. De même, les dommages mécaniques et le contact avec le sol durant la récolte devraient être limités autant que possible.

Les conteneurs (wagons, camions) utilisés pour la collecte ainsi que le transport des grains récoltés du champ jusqu'aux installations de séchage et d'entreposage après le séchage, devraient être propres, secs et exempts d'insectes, de moisissures et de toute matière contaminée, aussi bien avant qu'après l'emploi (Codex Alimentarius Commission, 2002).

### **4.4. Stratégies de contrôle après la récolte**

Les stratégies préventives après la récolte se basent essentiellement sur l'amélioration des conditions de séchage et de stockage et l'utilisation d'agents chimiques et biologiques appropriés.

Pour réduire la contamination par les mycotoxines pendant le stockage et le transport, il est important de contrôler les teneurs d'humidité et les fluctuations de température, la pénétration d'insectes, d'oiseaux et de rongeurs ainsi que les conditions d'hygiène (Codex Alimentarius Commission, 2004). Tout matériel en contact avec la récolte et les structures de stockage devraient être propre afin de limiter au maximum la contamination par des champignons. L'assainissement des locaux par des traitements chimiques est impératif en cas de contamination de la récolte précédente.

Le séchage des grains doit être réalisé aussi vite que possible, de préférence immédiatement après la récolte et par un système d'air chaud, afin d'empêcher la contamination par les champignons et leurs toxines. Il faut s'assurer aussi d'un taux d'humidité inférieur à 14-16 %, d'une durée du stockage intermédiaire (ou tampon) de moins de 10 jours et une température inférieure à 20°C (Codex Alimentarius Commission, 2004).

De plus, la présence d'oxygène présente un facteur déterminant pour le développement de la plupart des moisissures ; les champignons toxigènes sont des aérobies obligatoires. L'application d'une atmosphère pauvre en oxygène ou bien la fumigation au dioxyde de

carbone à un taux supérieur à 35%, ou par d'autres gaz, semblent réduire la production de l'ochratoxine par *Aspergillus ochraceus*.

Par ailleurs, la présence d'insectes et la formation de moisissures dans les entrepôts pourraient être réduites par l'utilisation des insecticides et des fongicides agréés et appropriés. Le choix de ces produits chimiques dépend de leur taux d'application, de la nature de la récolte, des espèces fongiques présentes dans les denrées et des conditions de stockage (European Commission report, 1999).

L'utilisation de certains insecticides comme le dichlorovos, permet de réduire la production d'OTA. Également, l'utilisation d'acides organiques en tant qu'agents de conservation, tel que l'acide propionique, peut s'avérer utile dans la mesure où ces acides suppriment efficacement les moisissures et préviennent l'apparition de mycotoxines dans les céréales destinées uniquement à l'alimentation animale. Néanmoins, ces composés peuvent agir négativement sur le goût et l'odeur des céréales.

Un traitement combiné d'acide propionique (0,05- 0,15%) et de nisine (500 - 1000 ppm) semble exercer des propriétés fongistatiques traduites par une inhibition significative d'*Aspergillus ochraceus* et *Fusarium moniliforme* et assurer aussi le contrôle de la production de certaines aflatoxines (AFB1et AFG1) par *Aspergillus parasiticus*.

En ce qui concerne la lutte biologique, l'utilisation de bactéries, champignons et levures antagonistes constitue une approche plus prometteuse et une alternative possible des traitements par les fongicides dans la prévention de la formation de mycotoxines particulièrement après la récolte.

Certaines levures antagonistes telles que *Pichia anomala* et *Saccharomyces cerevisiae* se sont montrées capables de réduire la biosynthèse et l'accumulation d'OTA à des niveaux non détectables *in vitro* chez deux isolats de *Penicillium verrucosum*.

Certaines huiles essentielles extraites de la menthe et d'origan sont efficaces contre le développement de champignons ochratoxinogènes en inhibant complètement le développement d'*Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 et la production d'OTA après 21 jours .

Toutefois, l'élimination totale des moisissures et de leurs toxines est pratiquement impossible, c'est pourquoi il semble important de compléter le panel des pratiques préventives par des traitements industriels appropriés des denrées alimentaires contaminées.

#### **4.5. Les stratégies préventives des mycotoxicoses**

Les nouvelles approches consistent à réduire les effets toxiques de l'OTA par l'ajout d'agents chélateurs de la toxine au régime alimentaire tels que la cholestyramine ou les aluminosilicates de sodium et de calcium hydratés.

Ces adsorbants sont capables de fixer les mycotoxines dans le tractus gastro-intestinal permettant ainsi de réduire leur biodisponibilité dans l'organisme animal et de limiter les effets toxiques. Des résines telles que la cholestyramine et le polyvinylpolypyrrolidone se sont révélées capables de fixer l'OTA et l'aflatoxine B1 (Piva & Galvano, 1999). Le charbon actif peut aussi lier certaines mycotoxines avec des capacités d'adsorption allant de 0,8 à 99% pour l'OTA et de 1,83 à 98,93% pour le déoxynivalénol.

Une autre stratégie consiste à l'ajout d'additifs alimentaires (vitamines, graines de sésame, aspartame, mélatonine, piroxicam ou acides lactiques et sorbiques) contribuant à une protection partielle de l'organisme contre la toxicité de l'OTA (Hussein, 2001 ).

### **5. Réglementation de l'OTA**

Issues d'une contamination généralement d'origine végétale, les mycotoxines constituent un grave problème de la qualité et de la sécurité sanitaire des aliments. Des règlements ou des recommandations ont été édictés au niveau national puis européen et des valeurs guides existent au niveau mondial pour fiabiliser les échanges commerciaux des denrées alimentaires quant à la sécurité sanitaire.

En ce qui concerne l'ochratoxine A, la réglementation concerne en particulier l'alimentation humaine. En effet, dans le cadre de la directive 1881/2006/CE (abrogeant le règlement 466/2001/CE) pour la fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires, des teneurs maximales ont été fixées pour l'OTA afin de limiter autant que possible l'exposition humaine (Tableau12).

**Tableau 12 : Teneurs maximales en ochratoxine A dans les denrées alimentaires**  
**Exprimées en µg/kg (AFSSA, 2006).**

Matrice alimentaire	Teneur maximale (µg/kg)
Grains de céréales brutes (y compris le riz brut et le sarrasin)	5
Produits dérivés des céréales (y compris les produits de céréales transformés et les grains de céréales destinés à la consommation directe)	3
Préparation à base de céréales pour enfants en bas âge et aliments diététiques destinés à des fins médicales spéciales spécifiquement pour les nourrissons	0,5
Raisins secs (Corinthe, sultanines et autres raisins secs)	10
Grains de café torréfié et café torréfié moulu	5
Café soluble (instantané)	10
Vin (rouge, blanc et rosé et autres boissons à base de vin et/ou de moût de raisins)	2
Jus de raisin, ingrédients à base de jus de raisin dans d'autres boissons, y compris le nectar de raisin et le jus de raisin concentré reconstitué	2

Aucune teneur maximale en OTA n'est encore fixée dans les aliments pour animaux. Cependant, la directive européenne (2006/576/CE) recommande d'appliquer des teneurs maximales en OTA dans les matières premières et aliments destinés à l'alimentation animale.

En Algérie, peu de données existent concernant la fixation de limites réglementaires de contamination par l'OTA dans les denrées alimentaires. Des teneurs d'OTA ont été détectées dans différentes régions.

En considérant les effets toxiques de l'OTA, en particulier ses effets néphrotoxiques, la Dose Hebdomadaire Tolérable (DHT) a été évaluée à 120 ng /kg du poids corporel (AFSSA, 2006). Cette dose est obtenue en se basant sur les plus petites doses induisant un effet néfaste (LOAEL) de 8 µg/kg p.c./jour pour les biomarqueurs précoces de sa néphrotoxicité chez les porcins, et en appliquant un taux d'incertitude de 450 prenant en compte à la fois les incertitudes d'extrapolation de résultats expérimentaux de l'animal à l'homme et la variabilité interspécifique (AFSSA, 2006).

# *Conclusion*

## **Conclusion**

Le problème des mycotoxines se présente comme une question d'importance mondiale, tant sur le plan économique que sur le plan de la santé publique. Bien que la situation soit différente entre pays développés et pays en voie de développement, plusieurs d'entre eux, ont pris conscience de l'ampleur de la question et accordent une attention grandissante aux problèmes posés par ces mycotoxines. Plusieurs stratégies de lutte contre la contamination mycotoxique de la chaîne alimentaire se sont développées.

La contamination des denrées alimentaires par les mycotoxines reste difficilement contrôlable malgré les efforts réalisés pour limiter les contaminations. Certains procédés de décontamination ont une efficacité restreinte ; leur utilisation s'avère impossible pour le traitement de l'alimentation humaine et animale. De même, les procédés de conservation (stérilisation, pasteurisation, lyophilisation, congélation...), s'ils agissent sur les moisissures, ne détruisent pas ou très peu la plupart des mycotoxines.

L'ochratoxine A, a particulièrement retenu notre attention. Cette mycotoxine est omniprésente dans la chaîne alimentaire et semble être l'agent causal d'un stress oxydant Interstitielle Chronique à étiologie. À ce jour, peu de méthodes sont proposées pour la décontamination de l'ochratoxine A, mais plusieurs pistes sont en cours d'investigation, notamment concernant la décontamination physique et biologique.

*Référence  
bibliographique*

## **Références bibliographiques**

- **AFSSA. (2006).** Rapport synthétique de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans la chaîne alimentaire humaine et animale, décembre 2006.
- **Beaudeau J.L and Dominique B.R. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Edition médicales. internationales p : 550.
- **Benaraba R.(2007).**Insulinorésistance et stress oxydant dans le syndrome métabolique :Etude expérimentale des effets protecteurs de microconstituants nutritionnels (polyphénols du thé,de la cannelle et chome III).Thèses de doctorat ,Université Joseph Fourier,Grenoble 1,Paris,246pt.16p.
- **Bendele A. M, Carlton W. W, Krogh P., Lillehoj E. B. (1985).** Ochratoxin A carcinogenesis in the (C57BL/6J X C3 H)F1 mouse. *Journal of the National Cancer Institute.* **75:** 733–742.
- **Bennett J. W., Klich M. (2003).** Mycotoxins. *American Society for Microbiology.* **16:** 497-516.
- **Bertrand P.(2008).**Implicatipon du stress oxydant dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*.Thèses de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse ; 297pt.17et20p.27p52p.57p.
- **CAST (Council for Agricultural Science and Technology), Ames, Iowa, USA (2003)** Mycotoxins: Risks in plant, animal and human systems, Task force report No. 139 / January 2003.
- **Cleveland T. E., Dowd P. F., Desjardins A. E., Bhatnagar D., Cotty P. J. (2003).** United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service research on preharvest prevention of mycotoxins and mycotoxigenic fungi in US crops. *Pest Management Science.* **59:** 629–642
- **Codex Alimentarius Commission. (2002).** Proposed draft code of practice for the prevention (reduction) of mycotoxin contamination in cereals, including annexes on ochratoxin A, zearalenone, fumonisins and trichothecenes. CX/FAC 02/21. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Rotterdam, The Netherlands.
- **Codex Alimentarius Commission. (2004).** Code of Practice for the prevention and reduction of aflatoxin contamination in peanuts. CAC/RCP, 55.

- **Creppy E. E., Baudrimont I., Betheder A. M. (1995b).** Ochratoxins and toxicological consequences. *Cryptogumie. Mycology*. **16**: 195-221.
- **Creppy E. E., Castegnaro M., Grosse Y., Mériaux J., Manier C., Montcharmont P., Waller C. (1993).** Etude l'ochratoxicose humaine dans trois régions de France: Alsace,Aquitaine et région Rhône-Alpes. In: Creppy E. E., Castegnaro M. and Dirheimer G. (Eds.), *Human ochratoxicosis an dits pathologies*,John Libbey Eurotext INSERM. **Vol.231**: 147-158.
- **Delattre J., Beaudoux J. et Bonnefont- Rousselot D.(2005).**Radicaux libres et stressoxydant : Aspects biologiques et pathologiques.Lavoisier, Paris,47p.
- **European Commission Report. (1999).** Opinion on the relationship between the use of plant protection products on food plants and the occurrence of mycotoxins in foods. European Commission SCP/RESI/063, Belgium.
- **Favier .R et pequigont. J.M (2002).** Altération mitochondrial et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'Ozone : effets de l'âge et d'une supplémentation en Oméga -3. Thèse de doctorat, Université claud Darnard-Lyon , France,19 à 31 p.
- **Favier A.(1997).**le stress oxydant :intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur.Laboratoire de biochimie des pathologies oxydatives (GREPO),Faculté de pharmacie et de biochimie C, CHU de Grenoble,Paries,Vol 55,n<sup>0</sup>1,p9-16.
- **Favier A.(2003).**Le stress oxydant .Intéret conceptuel et experimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.L'actualité chimique, p108-115.
- **Hesseltine C.W. (1976).** Conditions leading to mycotoxin contamination of foods and feeds. In: *Mycotoxins and other fungal related food problems* (edited by Rodricks, J.V.), *Advances in Chemistry Series No. 149.*, American Chemical Society, Washington DC, USA.
- **Hoehler D., Marquardt R. R., McIntosh A. R., Hatch G. M. (1997).** Induction of free radicals in hepatocytes, mitochondria and microsomes of rats by ochratoxin A and its analogues. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. **1357**: 225– 233.
- **Hussein H. S., Brasel J. M. (2001).** Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*. **167**: 101–134.

- **IARC. (1993).** International Agency for Research on Cancer. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. **56**, IARC, Lyon.
- **Janeway, Travers, Walport et Schlomchik (2008).** Immunobiologie : Immunité innée : 35-88.
- **Krogh P. (1972).** Mycotoxic porcine nephropathy: a possible model for Balkan Endemic Nephropathy. In : Pulchev A., Dinev I. V., Milev B. & Doichinov D., eds, Endemic Nephropathy, Sofia, Bulgarian Academy of Science, pp. 266-270.
- **Lea T., Steien K., Stormer C. (1989).** Mechanism of ochratoxin A induced immunosuppression. *Mycopathologia*. **107**: 153-159.
- **Matés J. M., Perez-Gomez C., NUNEZ DE CASTRO I. (1999)** .Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* ,vol 8,n0 32 :595 - 603
- **Meisner, H., and Cimbala, M. (1986).** Effect of ochratoxin A on gene expression in rat kidneys. *Developments In Toxicology And Environmental Science* **12**, 261-271.
- **Meisner, H., and Selanik, P. (1979).** Inhibition of renal gluconeogenesis in rats by ochratoxin. *The Biochemical Journal* **180**, 681-684.
- **Meki, A. R., and Hussein, A. A. A. (2001).** Melatonin reduces oxidative stress induced by ochratoxin A in rat liver and kidney. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* **130**, 305-313.
- **Muir W., Kalan I. (1998).** Storage mites in foodstuffs. *J. Pest & Crops*. 38-44.
- **O'Brien E, Dietrich D. R. (2005).** Ochratoxin A: The continuing enigma. *Critical Reviews in Toxicology*. **35**: 33-60.
- **OMS/FAO. (2001).** Ochratoxin A, In: Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food, vol. 47, WHO. Food Additives Series, pp. 281-415.
- **Pfohl-Leskowicz A. (2000).** Les mycotoxines : Mycotoxines et cancer, supplément à la lettre de l'ARET 2000, pp. 26-27.
- **Pfohl-Leskowicz, A., Manderville R. A. (2007).** Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, **51** (1):61-99.
- **Pitt J. I. (1987).** *Penicillium viridicatum*, *Penicillium verrucosum*, and production of ochratoxin A. *Applied and Environmental Microbiology*. **53**: 266-269.

- **Pitt J. I., Basílico J. C., Abarca M. L., Lopez C. (2000).** Mycotoxins and toxigenic fungi. *Medical Mycology*. **38**: 41-46.
- **Piva A., Galvano F. (1999).** Nutritional approaches to reduce the impact of mycotoxins. Proceedings of Alltech's 15th Annual Symposium, T. P. Lyons and K. A. Jacques (eds), 381-400. Nottingham University Press, Nottingham, UK..
- **Reboux G. (2006).** Mycotoxins: health effects and relationship to other organic compounds. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*. **46** : 208–212.
- **Rees M.D., Kennett E.C., Whitelock J.M and Davies M.J. (2008).** Oxidative damage to extracellular matrix and its role in human pathologies. *Free radical biology & Medicine* 44: 1973-2001
- **Richardson S. C. B, Fisher M. J. (1993).** Characterization of phenylalanine hydroxylase from rat kidney. *International Journal of Biochemistry*. **233**: 499–506.
- **Ringot D., Chango A., Schneider Y-J., Larondelle Y. (2006).** Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. *Chemico-Biological Interactions*. **159**: 18–46.
- **Sava V., Reunova O., Velasquez A., Harbison R., Sanchez-Ramos J. (2006).** Acute neurotoxic effects of the fungal metabolite ochratoxin-A. *Neurotoxicology*. **27**: 82-92.
- **Van der Merwe K. J., Steyn P. S., Fourie L., De Scott B., Theron J. J. (1965).** Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* Wilh. *Nature*. **205**: 1112-1113.
- **Verma R.J., and Shalini M. (1998).** Hyperglycemia induced in rabbits exposed to ochratoxin. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **60**, 626-631.
- **Yiannikouris A., Jouany J. P. (2002).** Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. *Animal Research*. **51**: 81–99.

**Site Web :**

[1]-[http://www. Alimentation –vieillesse- et cancer. html](http://www.Alimentation-vieillesse-et-cancer.html) (23-03-2011).

[2]-[http:// www.nature .com /... / fig tab /nchembio.85 F1.html](http://www.nature.com/.../fig_tab/nchembio.85.F1.html). ( 20-02-2011)

[3]-[http:// www.boutique –nature. fr /upload /dossiers/ 17.pdf](http://www.boutique-nature.fr/upload/dossiers/17.pdf). (11-01-2011)

[4]-Anonyme (1996).Les radicaux libres : Source des radicaux libres. Teco finance Export arl. [http:// www.codina.net/radicaux-libres.shtml](http://www.codina.net/radicaux-libres.shtml) (20-02-2011).

[5]-Anonyme (2006) Radical libre : pour l'article homonyme des états unis.

[http:// Fr.wiki pedia.org \ wiki \ stress oxydant](http://Fr.wiki pedia.org/wiki/stress_oxydant). (28-02-2011).

- [6]-Pincemail. J (1999). Stress oxydant : comment évaluer votre état de stress oxydant ? Université de liège : [\(http://www.probuox.com\Fr\html \ bodu.stress oxydant.htm\)](http://www.probuox.com\Fr\html \ bodu.stress oxydant.htm).(05-03-2011)
- [7]-Tania Bizouan (2003). L'activité du NADPH oxydase. <http://www.Lcp.u-psud. Fr\ Fr\ activités –scientifiques \grp-scient\bio\page-init /equipe.BB.htm>.(05-03-2011).
- [8]-<http://www.curador.net/indescuk/information/stress.html>.(26-04-2011).
- [9]:<http://www.virtualmuseum.ca/Exhibitions/Mushroom/Francais/Species/alterspore.html>(29-04-2011).
- [10]:<http://www.uoguelph.ca/~gbarron/MISC2004/microfus.htm>(01-05-2011).
- [11]:[http://www.musee-rappier.qc.ca/fr/index.php?pageid=3112e&image=3112e\\_cladosporium](http://www.musee-rappier.qc.ca/fr/index.php?pageid=3112e&image=3112e_cladosporium)(05-05-2011).
- [12]:[http://www.musee-afrappier.qc.ca/fr/index.php?pageid=3114e&image=3114e\\_roqueforti](http://www.musee-afrappier.qc.ca/fr/index.php?pageid=3114e&image=3114e_roqueforti)(14-05-2011).
- [13]:<http://www.lookfordiagnosis.com/images.php?term=Eurotiales&lang=4&from2=72>(22-05-2011).
- [14]:[http://www.coffee-ota.org/photo1\\_7.htm](http://www.coffee-ota.org/photo1_7.htm)(22-05-2011).
- [15]:<http://www.schimmel-schimmelpilze.de/penicillium-verrucosum.html>(19-05-2011).
- [16]:<http://www.curador.net/indexuk/information/stress.html>(17-04-2011).
- [17]:<http://home.euphony.net.be/sl/xanthones.html>(08-03-2011).
- [18]:<http://www.cancer.be/index.php/actualites/la-reponse-cellulaire-peut-etre-multiple-face-a-des-dommages-a-l-adn/id-menu-4721.html>(13-05-2011).
- [19]:<http://ead.univ-angers.fr/~jaspard/Page2/TexteTD/1SV2H2/5ModuleS4BG2/2Correction/8ExoTraceOxy/1TraceOxy.htm>(20-05-2011).

# *Résumé*

**Résumé :**

L'Ochratoxine A (OTA) est une mycotoxine sécrétée essentiellement par des champignons des genres *Aspergillus* et *Penicillium*. Elle contamine plusieurs denrées alimentaires et elle est impliquée dans diverses pathologies et dérèglements métaboliques. L'OTA est décrite comme étant l'agent causal très probable aussi bien de le stress oxydatif.

Des moyens de lutte et de prévention se sont mis en place afin de limiter la contamination par l'OTA mais celles-ci, semblent être d'efficacité restreinte. Ainsi, nous nous sommes intéressés à étudier les différentes stratégies de lutte contre les mycotoxines sur la décontamination d'une denrée alimentaire.

**Mots clés :** Mycotoxines, Ochratoxine A, Stress oxydatif, Décontamination.

**Abstract:**

Ochratoxin A (OTA) is a mycotoxin secreted mainly by fungi of the genera *Aspergillus* and *Penicillium*. They contaminate more food and is involved in various diseases and disorders métaboliques. OTA is described as the most likely causative agent of both oxidative stress.

Means of prevention and control were put in place to limit contamination by OTA, but they seem to be of limited effectiveness. Thus, we were interested to explore different control strategies against mycotoxins on decontamination of a food.

**Key words:** Mycotoxins, Ochratoxin A, oxidative stress, Decontamination.

### الخلاصة :

الأوكراتوكسين ألف (أوتا) هو عبارة عن سم يفرز أساسا من الفطريات التي تنتمي إلى أجناس الرشاشيات والبنسليوم. و تعمل على تلويث المزيد من المواد الغذائية وتشارك في مختلف الأمراض والاضطرابات الايضية كما أنها تعتبر عامل أساسي مسبب للتوتر التاكسدي .

تم وضع وسائل الوقاية والمكافحة في كل مكان للحد من التلوث عبر الأثير ، ولكن لها فعالية محدودة. وهكذا ، فإننا مهتمون لاستكشاف استراتيجيات المكافحة ضد السموم الفطرية المختلفة على إزالة التلوث من المواد الغذائية.

**كلمات البحث :** السموم الفطرية ، الأوكراتوكسين ألف ، الاكسدة ، وإزالة التلوث