

# Tests biologiques permettant l'évaluation de la détoxification des mycotoxines par des microorganismes

Annie PFOHL-LESZKOWICZ | Annie.leszkowicz@free.fr

Midival, Saint-Foy d'Aigrefeuille, 31570

Mots clés : Actinomycètes, bioessais, détoxification, mycotoxines, Lemna minor

Les mycotoxines sont des toxines produites par les moisissures\* et se retrouvent dans presque toutes les denrées alimentaires ainsi que dans l'environnement (eau, air). Elles sont responsables de pertes économiques et ont un impact préjudiciable pour la santé des animaux et des humains après ingestion (1,2) ou inhalation (3). Les mycotoxines les plus préoccupantes sont les aflatoxines\* (hépatotoxiques\*/cancérogènes), les trichothécènes\* (dérégulation du système immunitaire), la zéaralénone\* (perturbateur endocrinien\*), l'ochratoxine\* (néphrotoxique\*/cancérogène), les fumonisines (cancérogènes). Elles sont très résistantes aux divers procédés de transformations agroalimentaires. Les méthodes traditionnelles (physiques ou chimiques) pour éliminer ou inactiver les moisissures et les mycotoxines sont souvent chères, inefficaces, à l'origine de pertes nutritionnelles et de goût des aliments. La biotransformation\* des mycotoxines par des microorganismes est une technologie émergente et prometteuse. Les mycotoxines peuvent soit être adsorbées sur le microorganisme, soit métabolisées par celui-ci. La disparition de la mycotoxine dans l'aliment ne signifie pas automatiquement la perte de toxicité. Il est indispensable d'avoir des techniques d'analyse validant que le procédé à un pouvoir détoxifiant. Dans l'article d'El-Nekeety et al., la détoxification de l'aflatoxine\* B1 (AFB1) par des *Actinomyces*\* est validée par une étude animale où différents marqueurs de la fonction hépatique ont été mesurés. Dans l'article de Vanhoutte et al., un bio-essai fondé sur la viabilité de lentilles d'eau a été mis au point pour évaluer la toxicité du désoxynivalenol (DON) et sa détoxification par des bactéries.

## Evaluation d'un extrait bioactif d'*Actinomyces* isolés de l'environnement égyptien vis-à-vis de la cytotoxicité, la génotoxicité et le stress oxydant de l'aflatoxine B1 dans le foie de rats

EL-NEKEETY AA. et al. (2017). Evaluation of the bioactive extract of *actinomyces* isolated from the Egyptian environment against aflatoxin B1-induced cytotoxicity, genotoxicity and oxidative stress in the liver of rats. *Food and chemical toxicology*, 105 : p.241-55.

### Résumé

Des extraits d'*Actinomyces*\*, isolés d'un sol égyptien, ont été testés pour leurs effets protecteurs vis-à-vis d'effets délétères de l'aflatoxine B1 (AFB1). Des rats Sprague Dawley femelles âgées de 2 mois ont été exposées pendant 3 semaines à de l'AFB1 à raison de 80µg/kg poids corporel (pc) seule ou en présence de 25 ou 50 mg/kg.pc d'extrait d'*Actinomyces*. L'exposition à l'AFB1 seule altère les fonctions hépatiques. En effet il y a augmentation de l'ALT\* et l'AST\* ainsi que diminution du taux de protéine et d'albumine. Le profil lipidique est aussi altéré par l'AFB, avec augmentation du taux total de cholestérol, des triglycérides, du LDL\* et une réduction de HDL\*. La protection vis-à-vis des effets toxiques de l'AFB1 par les extraits d'*Actinomyces* a été prouvée par l'amélioration du gain de poids des animaux, la régulation du taux de malondialdéhyde (MDA\*) et de monoxyde d'azote (NO\*) dans le foie ainsi que la normalisation des marqueurs de la fonction hépatique (AST\* et albumine), des cytokines\* (AFP\*, ACE\* et IL6\*). Un effet bénéfique, bien que partiel, sur

le profil lipidique, les activités et l'expression des enzymes antioxydantes a été observé. Ceci s'accompagne d'une normalisation de l'expression des gènes impliqués dans l'apoptose\*(*Bax*, *Bcl2*, *p53*). Les aberrations chromosomiques\* (cassures d'ADN, délétion, translocation) induites par l'AFB1 diminuent significativement en présence des extraits d'*Actinomyces*. La plus faible dose testée (25 mg/kg) n'est pas suffisante pour annuler tous les effets histologiques négatifs engendrés au niveau du foie par l'AFB1 contrairement à la forte dose (50 mg/kg pc). Les extraits par eux-mêmes n'ont aucun effet délétère.

### Commentaire

La maîtrise de la contamination par les mycotoxines est un enjeu majeur. La tendance actuelle est le développement de nouvelles techniques basées sur la biotransformation\* de la mycotoxine. En général, les essais de détoxification ne sont fondés que sur la métabolisation de la toxine en produit potentiellement moins toxique ou par la constatation de la disparition de la toxine du milieu. Néanmoins la disparition de la toxine ne signifie pas automatiquement perte de toxicité. Cette étude présente l'avantage de confirmer la disparition des effets toxiques par une étude chez l'animal dans des conditions physiologiques réelles bien que la dose d'AFB1 utilisée puisse sembler élevée. Les conditions d'exposition (3 semaines/80µg/kg pc) ont été choisies afin de pouvoir observer les effets subaigus. Les extraits d'*Actinomyces* ont des activités anti-oxydantes et anti-tumorales. Comme ces extraits contiennent au moins 40 substances bioactives faisant partie de divers groupes chimiques comme des dérivés

soufrés, des polyphénols ou des dérivés d'acides gras, il reste à identifier lesquelles sont responsables des effets bénéfiques avant de pouvoir envisager leur utilisation.

### Détoxification microbienne du désoxynivalénol (DON) par biotransformation en 3-epi-DON et 3-epi-DOM-1 évalué grâce à un bio-essai impliquant *Lemna minor*

VANHOUTTE S. et al. (2017). Microbial detoxification of deoxynivalenol (DON), assessed via a *Lemna minor* bioassay, through biotransformation to 3-epi-DON and 3-epi-DOM-1. *Toxins*, 9 (63) : p.1-18.

#### Résumé

Le désoxynivalénol (DON) est une mycotoxine de la famille des terpènes, contaminant fréquemment les céréales. Sa production est difficile à maîtriser. Elle provoque à faible dose une baisse des défenses immunitaires chez les animaux et les humains. Divers produits ont été testés pour adsorber ou métaboliser cette toxine. Pour vérifier la détoxification du DON par divers microorganismes, un bioessai fondé sur la viabilité de *Lemna minor*\* a été mis au point. Dans un premier temps, la sensibilité de l'algue au DON a été évaluée par la mesure de la viabilité ainsi que la production de chlorophylle. Une exposition de l'algue à des doses entre 100 et 1mg/L a un effet létal\*. Une courbe de calibration a été établie entre 0,0625 et 1mg/L et a permis de montrer que *Lemna minor* est significativement sensible au DON à partir de 0,250 mg/L. Ce test est sensible à d'autres trichothécènes comme le diacétoxyscirpénol (DAS), la fusarénone X, la toxine T2 et HT2, mais pas au nivalénol (NIV) ni à la zéaralénone. Dans un deuxième temps, ce bioessai a été appliqué pour tester l'efficacité de différentes cultures microbiennes (rumen, extrait de sol, boue activée, produit de digestion) susceptibles de métaboliser le DON. Les microorganismes contenus dans le digestat ou le rumen ne détoxifient pas le DON contrairement à la boue activée et aux bactéries du sol. Le DON a été transformé en 3-epi-DON\* et en 3-epi-DOM\*, métabolites dont la toxicité vis-à-vis de *Lemna minor* est moindre, voire inexistante par rapport au DON.

#### Commentaires

Ce test est un outil innovant de screening permettant avec une grande sensibilité de détecter le DON et certains de ces dérivés. Cet outil est fondé sur la viabilité d'une algue (*Lemna minor*, organisme sentinelle). Le DON exerce un effet phytotoxique\*. Ce test n'est pas totalement spécifique à l'évaluation de la toxicité du DON puisque d'autres trichothécènes du même groupe sont également phytotoxique. Par contre cet outil a l'avantage de pouvoir rapidement tester et à coût raisonnable la détoxification du DON par des microorganismes. Le profil de détoxification du DON avec la boue activée et les bactéries du sol étant différent, bien que le DON disparaisse complètement dans les deux cas, nécessite un approfondissement pour identifier les voies de métabolisation et les métabolites non toxiques. Les divers microorganismes ont été choisis en fonction de l'intérêt qu'ils pourraient avoir dans le contexte de la diminution des contaminations par le DON. Cette mycotoxine est en effet très problématique pour les animaux d'élevage voire pour les humains (problèmes cutanées, impact sur le système

immunitaire), il est donc important de savoir comment elle va être transformée dans le système digestif des animaux. Le fait de connaître les voies de détoxification ouvre des perspectives pour le développement de moyens de détoxification des aliments par la sélection de bactéries du sol par exemple.

#### CONCLUSION GÉNÉRALE

**La maîtrise des mycotoxines est une priorité pour la sécurité des aliments. De nouvelles technologies se développent en ciblant la biodégradation des mycotoxines par des bactéries. Plusieurs exemples dans la littérature scientifique montrent que la biotransformation des mycotoxines ne se solde pas systématiquement par une détoxification, et pointent la nécessité et l'intérêt de développer des bioessais. L'intérêt de ces travaux est double : d'une part, le développement d'outils fiables, simples, rapides et peu coûteux pour évaluer la toxicité des mycotoxines ; d'autre part, l'efficacité de bactéries, du sol notamment, à dégrader l'AFB1 ou le DON. Ainsi, les extraits d'Actinomyces sont capables de contrecarrer les effets toxiques de l'AFB1 sur le foie. Les lentilles d'eau, organisme sentinelle, peuvent être utilisées pour tester la toxicité du DON, efficacement dégradé par des bactéries du sol et la boue activée**

#### GENERAL CONCLUSION

**The control of mycotoxins is a priority for the food safety. Several examples in the scientific literature show that the biotransformation of mycotoxins does not lead systematically in a detoxification. This points the necessity and the interest in developing bioassays. The interest of these works is double. On one hand, development of reliable, simple, fast and cheap tools to evaluate the toxicity of mycotoxins; on the other hand, testing the efficiency of bacteria, of soil in particular, to degrade AFB1 and DON. The extracts of Actinomyces are able of thwarting the toxic effects of AFB1 on the liver. Water lenses (a body sentinel) can be used to test the toxicity of DON which is degraded by soil bacteria and activated sludge.**

#### Lexique

**Aberration chromosomique** : la structure ou le nombre des chromosomes est anormal. Une partie d'un chromosome peut être déplacée, oubliée ou inversée.

**ACE** : antigène carcinoembryonnaire sécrété par les cellules de Kupfer, et impliqué dans les métastases.

**Aflatoxine** : mycotoxine produite par les *Aspergillii*, contaminant les céréales, les oléagineux.

**AFP** : alpha foeto protéine est un marqueur utilisé pour le diagnostic des hépatocarcinomes.

**Actinomyces** : bactérie filamenteuse.

**Apoptose** : (ou mort cellulaire programmée) processus par lequel des cellules déclenchent leur auto-destruction en réponse à un signal. C'est l'une des voies possibles de la mort cellulaire, qui est physiologique, génétiquement programmée, nécessaire à la survie des organismes multicellulaires.

**ALT** : alanine aminotransférase est une enzyme faisant partie des transaminases dont l'activité est mesurée en biologie pour tester la fonction du foie.

**AST** : aspartate aminotransférase est une enzyme faisant partie des transaminases dont l'activité est mesurée en biologie pour tester la fonction du foie.

**Biotransformation**: ensemble des mécanismes métaboliques par lesquels un polluant est chimiquement modifié et généralement dégradé par un organisme.

**Cytokines** : glycoprotéines, substances solubles de signalisation cellulaire synthétisées par les cellules du système immunitaire ou par d'autres cellules ou tissus, agissant à distance sur d'autres cellules pour en réguler l'activité et la fonction.

**Fumonisine** : mycotoxine du groupe des sphingolipides produite par des *Fusaria*, contaminant les céréales.

**HDL** : lipoprotéine de haute densité connue sous le nom de « bon cholestérol ».

**IL-6** : cytokine pro-inflammatoire qui va agir au niveau du foie lors d'une infection, afin d'activer la synthèse de molécules de la phase aigüe de l'inflammation.

**LDL** : lipoprotéine de faible densité connue sous le nom de « mauvais cholestérol ».

**Lemna minor** : petite lentille d'eau.

**Létal** : substance qui peut provoquer la mort d'un organisme vivant (animal, végétal).

**Malondialdéhyde (MDA)** : marqueur plasmatique de l'oxydation des lipides.

**Moississure** : champignons filamenteux.

**Ochratoxine** : mycotoxine produite par des *Penicillia* et des *Aspergilli*, contaminant aussi bien les céréales que les oléagineux, le café, les raisins, les haricots.

**Perturbateur endocrinien** : substance mimant les hormones.

**Phytotoxicité** : caractère toxique d'une substance chimique pour la croissance des plantes.

**Trichothécènes** : mycotoxine du groupe des terpènes produits par des *Fusaria* contaminant les céréales.

**Zéaralénone** : mycotoxine produite par *Fusarium graminearum* contaminant essentiellement le maïs.

**3-epi-DON** : épimère (Molécule organique ne différant de son isomère que par la configuration absolue d'un seul de leurs carbones asymétriques) de desoxynivalenol.

**3-epi-DOM** : épimère du de-epoxy-désosynivalenol.

## Publications de référence

1 **Nijs M.** et al. (2016). Strategies for estimating human exposure to mycotoxins via food. *Word mycotoxin journal*, 5 (9) : p.831-45.

2 **Ishikawa AT.** et al. (2016). Exposure assessment of infants to Aflatoxin M1 through consumption of breast milk and infant powdered milk in Brazil. *Toxins*, 8 (246) : p.246.

3 **Ferri F.** et al. (2017). Survey on urinary levels of aflatoxins in professionally exposed workers. *Toxins.*, 9 (117).

## Revue de la littérature

**Ji C.** et al. (2016). Review on biological degradation of mycotoxins. *Animal nutrition*, 2 : p.127-133.

**Zhu Y.** et al. (2017). Strategies and methodologies for developing microbial detoxification systems to mitigate mycotoxins. *Toxins*, 9 (130).

**Neme K.** et al. (2017). Mycotoxin occurrence in grains and the role of postharvest management as a mitigation strategies. *A review. Food Control*, 78 : p.412-25.

**Nguyen PA.** et al. (2017). Crop molds and mycotoxins: alternative management using biocontrol. *Biological control*, 104 : p.10-27.

**Loi M.** et al. (2017). Mycotoxin biotransformation by native and commercial enzymes : present and future perspectives. *Toxins*, 9 (111).

## Liens d'intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt