

## Contaminations du maïs par des mycotoxines

par P. LAFONT et Mme Jeanne LAFONT

---

### RÉSUMÉ

Sur 301 échantillons de maïs analysés, 55 étaient contaminés par des mycotoxines produites par des *Fusarium*, 18 à un taux supérieur à 1 mg/kg. Des relations peuvent être établies entre, d'une part, la fréquence et l'intensité de ces contaminations et, d'autre part, l'origine géographique et le mode de séchage du maïs.

### SUMMARY

Out of 301 samples of maize studied, 55 were contaminated by *Fusarium*-mycotoxins, 18 at a level higher than 1 mg/kg. Relationships could be established between, on one hand, the frequency and intensity of the contaminations and, on the other hand, the geographical origin and the drying procedure.

Avant même que n'ait été créé le terme « mycotoxines » de nombreuses observations avaient été rapportées d'accidents survenus chez des animaux domestiques consommant des maïs moisissés. Dans une revue bibliographique parue en 1962, FORGACS et CARLL [5] les ont rappelées. Parmi ces accidents, les uns, groupés par les auteurs américains sous le terme « moldy corn toxicosis », ont une étiopathogénie encore incomplètement précisée [12], les autres, de nature œstrogénique, sont dus à l'ingestion de métabolites de *Fusarium*, dont la zéaralénone [2, 10]. Les résultats de l'analyse de quelques centaines d'échantillons de maïs cultivés en France peuvent permettre une estimation des risques inhérents aux contaminations de cette céréale par des mycotoxines.

### MATERIEL ET METHODE

#### ECHANTILLONS

151 échantillons de maïs en épis, conservés en cribs plus de 4 mois et 150 de maïs-grains, battus à la récolte, stockés en silos,

---

\* I.N.S.E.R.M., Service de Microbiologie appliquée à l'Alimentation et à la Nutrition, 44, chemin de Ronde - 78110 Le Vésinet, B.P. 40.

TABLEAU I  
Origines des échantillons analysés

Région de production	Nombre d'échantillons	
	maïs en cribs	maïs en silos
Nord	80	81
Centre	28	19
Val-de-Loire	15	17
Sud-Ouest	28	33

ont été analysés. Ils correspondaient à des productions françaises, des années 1976, 1977 et 1978, dont les origines géographiques sont précisées dans le tableau I. Tous étaient représentatifs de lots céréaliers de qualité marchande, en voie d'utilisation pour la fabrication d'aliments destinés aux animaux.

#### EXTRACTION ET DOSAGE DES MYCOTOXINES

10 g de graines, après broyage au « mixer », sont soumis à cinq extractions successives, sous agitation, à température du laboratoire, les trois premières par 100 ml d'hexane chacune, les suivantes par 100 ml d'acétone-eau 70/30 (v/v) puis 100 ml d'acétone-eau 80/20 (v/v). Les phases acétone-aqueuses sont réunies et filtrées sur célite (couche d'environ 1 cm d'épaisseur). L'acétone est évaporée, en totalité, sous vide. La phase aqueuse résiduelle est lavée successivement par 100, 50 et 50 ml de chloroforme (solvant Merck « pro-analysis » ou similaire). Les phases chloroformiques sont réunies, on y introduit 10 mg de carbonate de cuivre pulvérulent. Après agitation et filtration (papier Whatman 2 V), on concentre sous vide à 1 ml.

La recherche de l'ochratoxine nécessite d'acidifier (pH 5,0-5,2) le mélange acétone-eau et de ne pas précipiter les pigments par le carbonate de cuivre.

Les chromatographies de l'extrait concentré, sur couche mince de silice (plaques Merck Si 60), utilisent les mélanges éluants suivants :

- méthanol-chloroforme (5/95, v/v), pour les aflatoxines et la stérigmatocystine ;
- toluène-acétone (12/7, v/v) pour les 12-13 époxytrichothécènes ;

— chloroforme-éther éthylique-acide acétique (85/15/5, v/v) pour la zéaralénone ;

— toluène-acétate d'éthyle-acide formique (60/30/10, v/v) pour l'ochratoxine A.

Les déterminations quantitatives ont été exécutées par fluorimétrie d'émission pour les aflatoxines, par absorption en ultra-violet pour la stérigmatocystine [3], après révélation par l'acide sulfurique pour la T2-toxine, l'HT2-toxine, le diacétoxyscirpénol, le mono-acétoxyscirpénol et le néosolaniol, après révélation par la benzidine bis-diazotée pour la zéaralénone [9]. Les substances de référence étaient, soit des produits Makor Chem. Ltd (Jérusalem), soit des produits cristallisés, préparés par nous-mêmes, contrôlés en spectrométrie de masse.

Certains dosages de 12-13 époxytrichothécènes ont été parallèlement réalisés en chromatographie en phase gazeuse [6, 11].

## RESULTATS

55 des échantillons analysés, soit plus de 18 p. 100, se sont montrés contaminés par des mycotoxines produites par des *Fusarium*. La présence de zéaralénone a été reconnue dans 29 lots de maïs, dont 5 qui contenaient également un ou plusieurs 12-13 époxytrichothécènes. Parmi ces derniers métabolites fongiques, ceux pour lesquels nous disposions d'étalons, ont été mis en évidence dans 31 échantillons. Comme l'indiquent les valeurs rapportées dans les tableaux II et III, l'intensité des contaminations était souvent élevée. Inversement, les autres mycotoxines recherchées, les aflatoxines, la stérigmatocystine et l'ochratoxine n'ont été détectées, et à concentrations faibles, que dans un nombre réduit de maïs étudiés.

Les 12-13 époxytrichothécènes qui ont été le plus fréquemment caractérisés et pour lesquels les taux de contamination les plus élevés ont été enregistrés, sont le diacétoxyscirpénol et la T2-toxine. Les autres, toujours peu abondants, étaient associés, dans la majorité des cas, aux deux précédents.

Dans deux échantillons de maïs en épis, la présence de déoxynivalénol a été suspectée à la suite d'observations répétées utilisant différentes méthodes d'extraction et d'élution en chromatographie en couche mince [11].

La fréquence des contaminations par la zéaralénone et par des 12-13 époxytrichothécènes est apparue nettement plus élevée pour les maïs conservés en cribs pendant l'hiver que pour ceux battus à la récolte (cf. tab. III). Elle présentait également de fortes variations en relation avec l'origine géographique des échantillons : le pourcentage de lots dont la contamination était supérieure à 0,2 ppm était

TABLEAU II  
Fréquence des contaminations

Mycotoxines	Nombre d'échantillons			
	étudiés	contaminés à un taux (ppm)		
		> 1	de 1 à 0,2	< 0,2
12-13 époxytrichothécènes	301	8*	13*	10*
Zéaralénone	»	10	10	9
Aflatoxines	»	0	0	4
Stérigmatocystine	»	0	0	4
Ochratoxine	104	0	0	2

\* Le taux de contamination est exprimé pour l'ensemble des 12-13 époxytrichothécènes détectés.

de 18 pour les maïs du Nord de la France, de 19 pour ceux du Centre, de 3 pour ceux du Val-de-Loire, de 1,6 pour ceux du Sud-Ouest.

## DISCUSSION

Les micromycètes du genre *Fusarium* constituent une fraction importante de la mycoflore couramment rencontrée sur des épis de maïs [8]. Le séjour en cribs réalise des conditions particulièrement favorables à la prolifération de ces moisissures [1] et, surtout, à la biosynthèse tant de la zéaralénone que des 12-13 époxytrichothécènes [4, 7]. Les résultats des analyses que nous avons effectuées sont en accord avec ces données, peut-être feraient-ils suspecter, de plus, un rôle joué par l'état de maturation du grain, lors de la récolte, sur le développement, ou la toxino-génèse, des *Fusarium*.

Les niveaux de contamination par la zéaralénone considérés comme susceptibles d'être à l'origine d'accidents œstrogéniques sont inférieurs à certains de ceux que nous avons constatés [11, 13]. En matière du rôle nosologique joué par les 12-13 époxytrichothécènes en pathogénie vétérinaire, plus rares sont les documents bibliographiques fournissant quelques précisions. MIROCHA *et al.* [11] ont indiqué que des syndromes entéro-hémorragiques du porc étaient

TABLEAU III  
Contaminations par des métabolites toxiques de *Fusarium*

Mycotoxines	Nombre de lots contaminés								Taux maximum (ppm)
	maïs en cribs				maïs en silos				
	A	B	C	D	A	B	C	D	
T2-toxine	8	1	4	3	11	0	5	6	1,35
HT2-toxine	4	0	0	4	1	0	0	1	0,10
Diacétoxyscirpénol	9	5	2	2	5	1	3	1	2,10
Mono-acétoxyscirpénol	1	0	0	1	3	0	0	3	0,30
Néosolaniol	2	0	0	2	0	0	0	0	0,20
Zéaralénone	16	6	7	3	13	4	5	4	3,15

A : nombre total de lots contaminés.

B : nombre de lots dont la contamination est supérieure à 1 ppm.

C : nombre de lots dont la contamination est comprise entre 0,2 et 1 ppm.

D : nombre de lots dont la contamination est inférieure à 0,2 ppm.

*Nota* : A plusieurs reprises, différents 12-13 époxytrichothécènes ont été détectés dans un même maïs. Pour ces mycotoxines, la limite de sensibilité de la méthode d'analyse correspond à 0,05 ppm.

secondaires à l'absorption d'aliments contenant du diacétoxyscirpénol à un taux de l'ordre de 380 à 500 µg/kg. Selon ces observations, il apparaîtrait que parmi les lots de maïs que nous avons analysés, certains auraient dû être considérés comme impropres à la consommation animale.

Bien que les résultats rapportés dans cette note portent sur un nombre réduit d'analyses, il semble qu'ils puissent orienter certaines mesures prophylactiques. Dans cette option, ne devraient être négligés ni les conditions climatiques de culture et de récolte du maïs, ni le mode de séchage.

**MOTS CLÉS** : 12-13 époxytrichothécènes - T2-toxine - Zéaralénone - Mycotoxicoses - *Fusarium* - Maïs.

**KEY WORDS** : 12-13-epoxytrichothecenes - T2-toxin - Zearalenone - Mycotoxicosis - *Fusarium* - Maize.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] CALDWELL (R. W.), TUIE (J.). — *Phytopathology*, 1970, 60, 1696-1697.
- [2] CHRISTENSEN (C. M.), NELSON (G. H.), MIROCHA (C. J.). — *Appl. Microbiol.*, 1965, 13, 653-657.
- [3] ENGEL (G.). — *J. of chromat.*, 1977, 136, 182-185.
- [4] EUGENIO (C. P.), CHRISTENSEN (C. M.), MIROCHA (C. J.). — *Phytopathology*, 1970, 60, 1055-1057.
- [5] FORGACS (J.), CARLL (W. T.). — *Advances in Vet. Sc.*, 1962, 7, 273-382.
- [6] IKEDIABI (C. O.), HSU (I. C.), BAMBURG (J. R.), STRONG (F. M.). — *Anal. Biochem.*, 1971, 43, 327-330.
- [7] JOFFE (A. Z.). — Alimentary toxic aleukia, in « *Microbial toxins* », vol. 7, Kadis (S.), Ciegler (A.), Ajl (S. J.), eds. Acad. Press, 1971, 139-189.
- [8] LAFONT (P.), LAFONT (J.). — *Ann. Nut. Alim.* (sous presse).
- [9] MALAIYANDI (M.), BARRETTE (J. P.), WAVROCK (P. L.). — *J.A.O.A.C.*, 1976, 59, 959-962.
- [10] MIROCHA (C. J.), CHRISTENSEN (C. M.), NELSON (G. H.). — F-2 estrogenic mycotoxin from *Fusarium*, in « *Microbial toxins* », vol. 7, Kadis (S.), Ciegler (A.), Ajl (S. J.), eds. Acad. Press, 1971, 107-138.
- [11] MIROCHA (C. J.), PATHRE (S. V.), SCHAUERHAMER (B.), CHRISTENSEN (C. M.). — *Appl. Environmental Microbiol.*, 1976, 32, 553-556.
- [12] MOSS (M. O.). — The rubratoxins, toxic metabolites of *P. rubrum* Stoll, in « *Microbial toxins* », vol. 6, Kadis (S.), Ciegler (A.), Ajl (S. J.), eds. Acad. Press, 1971, 381-407.
- [13] NELSON (G. H.), CHRISTENSEN (C. M.), MIROCHA (C. J.). — *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 1973, 163, 1276-1277.



MM. FLECKINGER et NICOLAS interviennent dans la discussion de cette communication dont l'insertion au Bulletin est votée à l'unanimité.

---