

Stratégies d'intervention visant à réduire l'exposition humaine aux aflatoxines et aux fumonisines

Ce chapitre passe en revue une large gamme d'interventions visant à réduire l'exposition aux aflatoxines et aux fumonisines, dont l'impact bénéfique en termes de santé est prouvé au niveau communautaire, et qui peuvent être mises en œuvre dans les zones rurales d'Afrique et d'Amérique centrale. Les interventions diffèrent en termes des ressources nécessaires, de complexité et d'envergure. Leur mise en place repose sur la volonté politique et le consentement social. Certaines interventions sont compliquées et demandent la mobilisation de ressources considérables, d'autres sont faciles à mettre en œuvre à l'échelle de la communauté ou même des ménages. Néanmoins, toutes doivent être adaptées aux particularités culturelles et individuelles, et selon qu'elles s'adressent plus spécifiquement aux femmes ; toutes doivent

s'appuyer sur une technologie solide et pouvoir être mises en œuvre de façon durable. Il est nécessaire de vérifier préalablement l'efficacité de certaines de ces interventions dans les zones où l'exposition aux aflatoxines est élevée.

Pour identifier les interventions efficaces dans les pays à revenu faible, le Groupe de travail a analysé les études apportant des indices fiables, directs ou indirects, de l'amélioration de la santé et d'une diminution des taux de biomarqueurs des mycotoxines. Pour évaluer les données concernant les interventions de santé publique, il convient d'examiner leur crédibilité en même temps que leur exhaustivité, et de vérifier si elles sont applicables au niveau individuel, communautaire ou national. Les meilleures preuves (c'est-à-dire celles qui indiquent qu'une intervention est prête à être

mise en œuvre) proviennent des approches qui ont atteint un stade de développement avancé, qui ont montré des effets notables, et répondent aux besoins des principales parties intéressées. (Rychetnik et coll., 2002). Quinze interventions ont été classées dans l'une des quatre catégories suivantes : (1) indications suffisantes pour la mise en œuvre de l'intervention, (2) besoin de données supplémentaires sur le terrain, (3) besoin de recherche formative et (4) absence de preuves ou inefficacité de l'intervention. Le Groupe de travail a également élaboré des recommandations relatives à la conception des nouvelles études à réaliser et à la possibilité de les réaliser à plus grande échelle. Les résultats de leurs évaluations sont résumés dans le Tableau 7.1. On trouvera ci-dessous l'analyse des différentes interventions.

Tableau 7.1. Résumé de l'évaluation par le Groupe de travail des interventions associées à la réduction de l'exposition aux aflatoxines et/ou aux fumonisines

Intervention	Catégorie de preuves ^a	Contexte	Lacunes (recherche/applications)	Combinaisons/problèmes/commentaires
Diversité alimentaire	— ^b	Réduction du carcinome hépatocellulaire en fonction de la dose	<ul style="list-style-type: none"> Investissement dans les cultures appropriées pour la région considérée, adaptées au climat et culturellement acceptables 	Commentaire : difficile dans les situations d'insécurité alimentaire ou dans les pays d'insécurité en termes de nourriture, de terre arable ou d'eau
Résistance génétique		Contamination		
Aflatoxine dans le maïs	3		<ul style="list-style-type: none"> Introduction de la résistance dans les lignées agronomiques Identification des gènes de résistance 	Combinaison : lutte biologique ; pratiques agronomiques et post-récolte Problèmes : communauté scientifique réduite ; effet important de l'environnement sur l'expression phénotypique ; la résistance est polygénique
Fumonisine dans le maïs	2		<ul style="list-style-type: none"> Introduction de la résistance dans les lignées agronomiques Identification des gènes de résistance 	Combinaison : pratiques agronomiques et post-récolte Problèmes : communauté scientifique réduite ; effet important de l'environnement sur l'expression phénotypique ; la résistance est polygénique
Aflatoxine dans les arachides	4		<ul style="list-style-type: none"> Identification des sources de résistance Introduction de la résistance dans les lignées agronomiques 	Combinaison : lutte biologique ; pratiques agronomiques et post-récolte Problèmes : effet important de l'environnement sur l'expression phénotypique dans de vastes zones ; communauté scientifique réduite ; la résistance est polygénique et mal décrite
Lutte biologique		Contamination		
Souches atoxinogènes	2		<ul style="list-style-type: none"> Fréquence et conséquences des recombinaisons génétiques Constance de l'efficacité évaluée dans différentes zones géographiques et avec différents utilisateurs 	Combinaison : pratiques agronomiques et post-récoltes Commentaire : recherche translationnelle en cours en Afrique et aux Etats-Unis
Prévention primaire		Relation dose–effet		
Argiles à base de smectite dioctaédrique	2		<ul style="list-style-type: none"> Dose et durée sur l'efficacité et l'innocuité Effets sur les nourrissons, les enfants et les femmes enceintes 	Combinaison : Argile modifiée avec de la chlorophylline et autres agents capables de piéger les toxines Problème : Stratégies de formulation Commentaires : Possibilité d'efficacité augmentée durant les épidémies ; possibilité d'atténuer l'action des aflatoxines et des fumonisines
Chlorophylline	2			
<i>Lactobacillus</i>	3			
Glucane extrait de la levure	4			
Post-récolte		Relation dose–effet/contamination		
Ensemble des mesures	1		<ul style="list-style-type: none"> Le transfert des connaissances est culturel Nécessité de développer des modules en partenariat avec les cultivateurs, les services de vulgarisation agricole, les chefs traditionnels, les groupes religieux, les agents de santé et la société civile 	Commentaires : prêt à être mis en œuvre ; ensemble de mesures à appliquer en cas d'exposition chronique ; à appliquer toutes ensemble sous forme d'un ensemble multifactoriel d'intervention
Tri	1		<ul style="list-style-type: none"> Effectué dans toutes les cultures pour toutes les récoltes, mais nécessité d'éducation sur les meilleures pratiques au niveau des villages 	Problème : sort des aliments rejetés Commentaire : important pour les compléments alimentaires
Nixtamalisation	1		<ul style="list-style-type: none"> Nécessite d'avoir suffisamment d'eau pour le lavage N'a pas été adaptée pour l'Afrique et l'Asie 	

Tableau 7.1. Résumé de l'évaluation par le Groupe de travail des interventions associées à la réduction de l'exposition aux aflatoxines et/ou aux fumonisines (suite)

Intervention	Catégorie de preuves ^a	Contexte	Lacunes (recherche/applications)	Combinaisons/problèmes/commentaires
Chimio-prévention		Relation dose-effet		
Extraits de pousses de brocoli	2		<ul style="list-style-type: none"> • A ce jour, nécessité d'étendre les essais cliniques d'efficacité de phase II à des interventions à plus long terme • Transposition aux aliments locaux, culturellement acceptables contenant ces inducteurs enzymatiques • A ce jour, uniquement des études de biomarqueurs ; aucune étude dont les résultats s'appuient sur des critères de santé 	Commentaire : possibilité d'utilisation en cas d'exposition aiguë ; plantes indigènes ; diversification alimentaire
Dithioléthiones	2			
Polyphénols du thé vert	2			

^a Catégories de preuves d'efficacité pour les interventions de santé publique : (1) indications suffisantes pour la mise en œuvre de l'intervention, (2) besoin de données supplémentaires sur le terrain, (3) besoin de recherche formative et (4) absence de preuves ou inefficacité de l'intervention.

^b Il s'agit d'une intervention validée (voir texte) mais qu'il n'est pas possible de classer dans la catégorie 1 (indications suffisantes pour leur mise en œuvre) du fait de sa complexité qui la rend inapplicable dans la plupart des situations.

Réglementation

Même s'ils ne sont pas considérés explicitement comme des interventions, les cadres réglementaires internationaux et ceux définis par les gouvernements et les entreprises peuvent jouer un rôle moteur important dans la réduction des taux de mycotoxines dans l'alimentation humaine et animale. En ce qui concerne la sécurité sanitaire des aliments, la mise en place d'une réglementation débute dans le secteur des entreprises, pour les cultures destinées à l'alimentation domestique et à l'exportation (Reardon et coll., 1999 ; Kussaga et coll., 2014). Avec le développement des capacités, la mise en place de cadres juridiques et de structures chargées de veiller à leur application, le taux de contamination des cultures finit par diminuer. L'effet bénéfique est toutefois plus limité en ce qui concerne les petits cultivateurs, les bénéfices allant en règle générale vers les grands exploitants agricoles (Hansen et Trifković, 2014).

Quand il existe un cadre légal, les techniques et les stratégies d'intervention sont généralement solides et l'exposition d'origine alimentaire est faible. Le premier objectif, quand les dispositifs réglementaires ne sont pas entièrement fonctionnels, doit être leur mise en place et leur application. L'application de la législation relative aux risques sanitaires des produits alimentaires est essentielle pour la santé publique et pour la viabilité économique ; c'est le moteur du développement et de l'utilisation durables des techniques d'intervention.

Atténuation de l'exposition aux mycotoxines grâce à la diversité alimentaire

La diversification alimentaire représente une excellente façon d'améliorer la nutrition et la santé (FAO, 1997 ; Frison et coll., 2006 ; Lovo et Veronesi, 2014). Une alimentation saine se définit par le nombre d'aliments différents, ainsi que la quantité et la valeur

nutritionnelle de ces aliments disponibles pour la consommation (Drescher et coll., 2007). Les données alimentaires de la République unie de Tanzanie ont permis d'estimer l'effet de la diversification des cultures sur la croissance infantile et laissent préfigurer un effet positif notable sur le statut nutritionnel des enfants, plus particulièrement pour les filles, et sur la taille des enfants (Lovo et Veronesi, 2014).

L'insuffisance de diversité alimentaire est directement liée au niveau d'exposition aux mycotoxines. En Afrique rurale et dans certaines parties d'Amérique latine, un pourcentage élevé de calories provient du maïs, qui est fréquemment contaminé par les aflatoxines et/ou les fumonisines. En Afrique orientale, l'exposition à l'aflatoxine est directement corrélée à la consommation journalière de maïs, et l'exposition à la fumonisine provient presque exclusivement du maïs (Kimanya et coll., 2008). Une autre source importante d'exposition aux aflatoxines provient de la

consommation d'arachide (Liu et Wu, 2010 ; IARC, 2012). L'accès à une grande variété d'aliments réduit le risque d'exposition en diminuant l'apport de ces aliments couramment contaminés (Groopman et coll., 2008). Le remplacement des denrées alimentaires présentant un risque élevé de contamination aux mycotoxines par des aliments à faible risque devrait améliorer l'accès à une alimentation possédant une meilleure valeur nutritive.

Ce qui s'est passé à Qidong, en Chine, constitue un excellent exemple de l'amélioration de la santé par le passage d'une source alimentaire à haut risque de contamination par les aflatoxines à une source à plus faible risque. Le gouvernement ayant imposé de consommer uniquement les produits cultivés localement et prohibé les échanges de produits alimentaires entre régions, les habitants du Comté de Qidong s'étaient vus obligés de produire et de consommer essentiellement du maïs depuis plusieurs dizaines d'années. La libéralisation du commerce entre les provinces leur a permis d'importer du riz d'autres régions de Chine, et de le substituer au maïs comme aliment de base. Comme le niveau de contamination du riz par les aflatoxines est beaucoup plus faible que celui du maïs, l'exposition aux aflatoxines a diminué et l'on a observé une chute de l'incidence du cancer du foie (Chen et coll., 2013).

La diversité alimentaire et le risque d'exposition sont également fonction des facteurs socioéconomiques. En Afrique occidentale, Egal et coll. (2005) ont rapporté que le maïs est consommé en moyenne 5 à 7 jours par semaine. C'est actuellement la céréale de base la plus courante ; elle a remplacé les céréales

traditionnelles comme le sorgho, le millet et autres féculents (Miracle, 1966). La consommation d'arachide, autre source courante d'aflatoxines, est positivement corrélée aux variables reflétant le niveau économique de la mère et du ménage, et varie en fonction de la zone agro-écologique. Au Ghana, Shuaib et coll. (2012) ont montré une relation négative entre le revenu des femmes et les taux des biomarqueurs de l'aflatoxine dans le sang. On peut donc penser que l'augmentation du pouvoir d'achat pourrait favoriser la diversification des choix alimentaires.

La modification des préférences alimentaires en l'absence de contraintes économiques peut relever de campagnes promotionnelles et d'actions de sensibilisation. C'est néanmoins un énorme défi que de faire évoluer les préférences et le mode d'accès aux denrées alimentaires dans des populations qui vivent dans l'insécurité alimentaire. En 1950, le sorgho et le millet représentaient la principale source de féculents en Afrique sub-saharienne (40%), suivis par le manioc (30%) et le maïs (15%) (Miracle, 1966). La substitution du maïs aux céréales plus anciennes correspond à la tendance mondiale ; au cours des 50 dernières années, la consommation de sorgho et de millet a diminué de 50%, et la consommation de manioc de 40% (Khoury et coll., 2014). Cette évolution a pu avoir un rôle important dans l'augmentation de l'exposition aux aflatoxines. En Afrique occidentale, par exemple, les concentrations en aflatoxines dans le millet perlé et le sorgho sont substantiellement plus faibles que dans le maïs (Bandyopadhyay et coll., 2007).

Résistance génétique du maïs à la contamination par les aflatoxines et les fumonisines

Aflatoxines

Certaines variétés de maïs présentent une résistance génétique aux aflatoxines et aux fumonisines, mais ces résistances sont complexes et impliquent de nombreux gènes. Il faudrait pouvoir intégrer ces gènes de résistance, par génie génétique, dans des génotypes acceptables du point de vue agronomique (Moreno et Kang, 1999 ; Eller et coll., 2008 ; Warburton et coll., 2013 ; Zila et coll., 2013 ; Warburton et Williams, 2014).

La résistance aux insectes qui se nourrissent sur les épis est associée à une diminution de la teneur en aflatoxines et en fumonisines (Miller, 2001 ; Munkvold, 2003). L'expression transgénique des toxines de *Bacillus thuringiensis* (Bt) permet de réduire les dégâts causés par les insectes ainsi que la contamination par les fumonisines (de la Campa et coll., 2005 ; Barros et coll., 2009 ; Ostry et coll., 2010 ; Abbas et coll., 2013 ; Pray et coll., 2013). Néanmoins, l'efficacité de Bt en ce qui concerne la réduction de la contamination par les aflatoxines n'est pas établie (Abbas et coll., 2013).

L'analyse histologique, protéomique et transcriptomique de l'interaction entre les moisissures et les grains de maïs a mis en évidence des similitudes frappantes avec d'autres systèmes bien caractérisés ; il devrait donc être possible d'obtenir des variétés de maïs résistantes. Les nouvelles techniques de la génétique, associées aux stratégies d'amélioration des cultures et de phénotypage, ont considérablement augmenté le nombre de marqueurs génétiques associés à la

résistance aux aflatoxines et aux fumonisines et ont permis d'identifier des gènes et des protéines qui pourraient être associés à la résistance (Lanubile et coll., 2010 ; Brown et coll., 2013 ; Campos-Bermudez et coll., 2013 ; Dolezal et coll., 2013, 2014 ; Warburton et Williams, 2014). Des progrès ont été réalisés dans la sélection de lignées parentales de maïs résistantes à l'accumulation d'aflatoxine, dont la résistance est élevée et reproductible dans différents environnements (Mayfield et coll., 2012 ; Williams et Windham, 2012). D'autres sources de résistance ont été identifiées par le *Germplasm Enhancement of Maize Project* (Projet d'amélioration génétique du maïs), programme public-privé qui utilise du matériel génétique exotique provenant du monde entier, et notamment du Centre international d'amélioration du maïs et du blé (CIMMYT, pour *Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo*) (Li et coll., 2002 ; Henry et coll., 2013). L'utilisation d'une collection réduite représentative de la diversité du maïs, constituée à partir des lignées d'hybridation des programmes de sélection à travers le monde (Flint-Garcia et coll., 2005), a permis d'identifier plus de 30 lignées présentant une bonne résistance aux mycotoxines dans sept environnements différents (Warburton et coll., 2013 ; Warburton et Williams, 2014). Ces lignées sources de maïs sont à la disposition du public, et plusieurs ont déjà été intégrées dans un projet associant l'Agence internationale pour le développement et le Ministère de l'agriculture des États-Unis (USAID/USDA) et deux centres du Groupe consultatif pour la recherche agricole internationale (CGIAR, pour *Consultative Group on International Agricultural Research*), avec l'objectif de développer des cultivars hybrides résistants (Warburton et Williams, 2014). Dans

le cadre d'une stratégie de collaboration États-Unis-Afrique, l'Institut international d'agriculture tropicale (IITA) et l'USDA ont obtenu six lignées pures adaptées à l'Afrique et présentant une meilleure résistance à l'accumulation d'aflatoxines (Menkir et coll., 2006, 2008).

En résumé, on utilise déjà des maïs hybrides présentant une certaine résistance à *Aspergillus flavus* et aux aflatoxines, mais leur niveau de résistance n'est pas encore suffisant pour limiter la contamination de certains champs à des niveaux acceptables. Des gènes probablement associés à la résistance ont été identifiés par des études du profil d'expression génétique et il conviendrait d'évaluer leur rôle dans la résistance à la contamination par les aflatoxines.

Fumonisines

On a identifié de nombreux génotypes présentant une certaine résistance à l'accumulation de fumonisines (Mesterházy et coll., 2012 ; Santiago et coll., 2013), notamment des lignées adaptées à l'Argentine (Presello et coll., 2011), à l'Afrique centrale et occidentale (Afolabi et coll., 2007) et à l'Afrique du Sud (Small et coll., 2011), mais on ne dispose d'aucun hybride possédant une résistance suffisante. L'héritabilité de la résistance à l'accumulation de fumonisine est plus élevée que pour l'aflatoxine (Zila et coll., 2013). La pourriture de l'épi est corrélée de façon modérée à élevée à la teneur en fumonisine ; ainsi, la résistance à la moisissure et la résistance à la production de fumonisine sont étroitement liées au niveau du génotype (Eller et coll., 2008 ; Presello et coll., 2011 ; Zila et coll., 2013). Cette corrélation a permis la sélection de la résistance à l'accumulation de fumonisine d'après l'indice de pourriture de l'épi (Robertson et coll.,

2006 ; Eller et coll., 2008 ; Santiago et coll., 2013), ce qui permet un criblage plus rapide et moins coûteux.

Les études d'association portant sur la totalité du génome, réalisées à partir de la collection réduite représentative de la diversité génétique du maïs, ont permis d'identifier trois nouveaux locus correspondant à 3–12% des variations génétiques associées à la résistance à la pourriture de l'épi (Zila et coll., 2013). Trois gènes potentiellement impliqués dans la résistance sont localisés à proximité des marqueurs génétiques. Le grand nombre de marqueurs génétiques disponibles dans les collections de ressources génétiques permet de disséquer les traits quantitatifs complexes comme la résistance à l'accumulation des mycotoxines.

L'accumulation de fumonisine est systématiquement réduite dans les maïs hybrides Bt résistants aux dégâts causés par les insectes. Cela permet de différencier les produits du maïs qui sont relativement sains de ceux qui ne le sont pas (de la Campa et coll., 2005 ; Pray et coll., 2013).

Résistance génétique de l'arachide à la contamination par l'aflatoxine

La résistance génétique de l'arachide à la contamination par l'aflatoxine est complexe : l'héritabilité est faible à modérée, la corrélation entre la croissance des moisissures et la contamination par l'aflatoxine est faible, et les résultats des essais sur les semences *in vitro* ne sont pas corrélés à ceux des essais en plein champ (Holbrook et coll., 2008 ; Arunyanark et coll., 2010 ; Girdthai et coll., 2010b ; Hamidou et coll., 2014).

On dispose de plasmas germinatifs présentant une certaine résistance, mais les génotypes

répondent différemment selon le lieu, du fait des interactions entre le génotype et l'environnement sur la contamination à l'aflatoxine (Li-ang et coll., 2006 ; Arunyanark et coll., 2010 ; Girdthai et coll., 2010a, 2010b ; Hamidou et coll., 2014).

Le stress dû à la sécheresse est un des facteurs de l'environnement dont l'effet est important, et de nombreux programmes ont porté sur la sélection de la tolérance à la sécheresse pour améliorer la résistance à la contamination par l'aflatoxine. Une étude de terrain menée en Afrique occidentale a consisté à examiner 268 génotypes dans quatre lieux différents et a permis de confirmer que la contamination par l'aflatoxine augmente avec l'intensité du stress à la sécheresse ; les chercheurs n'ont toutefois pas trouvé de relation directe significative entre la tolérance à la sécheresse et la contamination par l'aflatoxine (Hamidou et coll., 2014), ce qui est probablement dû à l'effet d'autres facteurs environnementaux spécifiques des sites étudiés.

Une meilleure compréhension des mécanismes de résistance devrait permettre d'améliorer la sélection de plasmas germinatifs résistants. Les séquences génomiques des deux progéniteurs diploïdes de l'arachide sont maintenant disponibles (http://peanutbase.org/browse_search), ce qui peut faciliter la cartographie moléculaire et la sélection en fonction de la résistance à la maladie.

Lutte biologique contre les aflatoxines

Aux Etats-Unis, des stratégies de lutte biologique ont été développées pour réduire la contamination par l'aflatoxine des graines de coton (Cotty, 1994), de l'arachide (Dorner et Lamb, 2006), du maïs (Dorner et coll., 1999) et des

pistaches (Doster et coll., 2014) à l'aide de souches d'*A. flavus* qui ne produisent pas d'aflatoxines (souches atoxinogènes). Dans la pratique commerciale des Etats-Unis, ces souches atoxinogènes sont appliquées dans les champs lors de la croissance des plantes (Cotty, 1994 ; Dorner et Lamb, 2006). Dans les conditions appropriées, la souche introduite se propage à travers le champ et remplace les souches autochtones toxigènes (Mehl et coll., 2012 ; Atehnkeng et coll., 2014). Les produits utilisés dans la lutte biologique peuvent contenir des souches provenant d'un seul clone (Bock et Cotty, 1999) ou plusieurs souches différentes, de façon à faciliter leur adaptation aux conditions locales (Atehnkeng et coll., 2014).

On a identifié plusieurs facteurs susceptibles d'affecter l'efficacité de cette approche. La rosée et l'humidité vont permettre aux souches atoxinogènes de produire des spores pendant plusieurs jours (ou plus longtemps si les conditions favorables persistent). Si les semences sont placées dans un sol sec, il se peut que la production de spores ne se fasse pas ; elles resteront inertes mais viables jusqu'au retour de l'humidité (Bock et Cotty, 1999). L'application de souches atoxinogènes sur le maïs peut être inefficace si elle est tardive (après l'apparition des soies). En cas de fortes pluies après la dissémination de l'inoculum, le produit de lutte biologique peut ne pas rester de façon uniforme à la surface du champ. Abbas (2011) a analysé de façon critique l'utilisation de souches atoxinogènes d'*A. flavus* aux Etats-Unis, et conclu que cette technique semblait utile pour réduire les concentrations d'aflatoxine dans le maïs.

Lutte biologique en Afrique

Dans une étude menée au Nigéria, l'inoculation 2 années de suite d'un mélange de quatre souches atoxinogènes endémiques d'*A. flavus* dans des parcelles de maïs situées dans quatre contextes agro-écologiques différents a entraîné une réduction significative des concentrations d'aflatoxine au moment de la récolte et après stockage (Atehnkeng et coll., 2014). Au moment de la récolte, la réduction de la teneur en aflatoxine allait de 57,2% (27,1 ppb dans les parcelles non traitées contre 11,6 dans les parcelles traitées) à 99,2% (2792,4 ppb dans les parcelles non traitées contre 23,4 ppb dans les parcelles traitées). Les souches atoxinogènes sont restées dans les maïs traités, et les concentrations d'aflatoxines dans les grains après stockage, dans de mauvaises conditions, ont diminué de 93,5% (956,1 ppb dans le maïs non traité contre 66,2 ppb dans le maïs traité) à 95,6% (2408,3 ppb dans le maïs non traité contre 104,7 dans le maïs traité).

Au Nigéria, le même pourcentage d'échantillons de maïs était contaminé à la fois par des aflatoxines et des fumonisines (Adetunji et coll., 2014 ; Adetunji et coll., 2014), ce qui n'est pas rare. Dans les situations qui favorisent le développement concomitant d'aflatoxine et de fumonisine dans les champs, il est nécessaire d'avoir recours à des interventions efficaces contre les deux toxines. Mais à part le maïs Bt, qui n'est pas encore largement utilisé en Afrique, il existe peu d'interventions capables de prévenir la fumonisine sur le terrain. Des essais préliminaires ont montré la possibilité de développer des traitements biologiques contre *Fusarium verticillioides* (Sobowale et coll., 2007).

La recombinaison génétique appliquée à *A. flavus* permet d'augmenter sa diversité (Olarie et coll., 2012 ; Horn et coll., 2014). L'acquisition de gènes des toxines est possible au cours de la recombinaison qui se produit lors de la reproduction sexuée, mais les conséquences ne sont pas claires en ce qui concerne la lutte biologique (Abbas et coll., 2011). A ce jour, les études montrent que la production d'aflatoxine est un caractère héritable qui ne se perd pas au cours de la recombinaison sexuée ; l'hybridation entre souches toxigènes et atoxinogènes a toutefois abouti à la production de taux faibles ou nuls d'aflatoxine par la descendance (Olarie et coll., 2012).

Production d'acide cyclopiazonique par *A. flavus*

L'acide cyclopiazonique (ACP) exerce un effet toxique et immunosuppresseur sur différentes souches de souris et de rats ainsi que chez le porc et la volaille (Burdock et Flamm, 2000 ; De Waal, 2002 ; King et coll., 2011). L'une des souches commerciales atoxinogènes d'*A. flavus* utilisée aux Etats-Unis, l'AF36, produit de l'ACP. Il est possible de sélectionner des souches d'*A. flavus* qui ne produisent pas d'aflatoxine ni d'ACP (King et coll., 2011). Avant leur utilisation, il est nécessaire de trouver le moyen de réduire ou d'éliminer, la production d'ACP dans les souches utilisées pour la lutte biologique (Abbas et coll., 2011 ; King et coll., 2011).

Besoins en matière de recherche

L'utilisation de souches atoxinogènes pour lutter contre la présence d'aflatoxine dans le maïs et l'arachide, en Afrique et dans d'autres parties du monde,

demande des investissements pour optimiser, adapter et déployer cette technologie de façon durable.

Etant donné le grand nombre d'investigations exploratoires en Afrique, il est nécessaire de mener des études pour évaluer l'impact de la recombinaison génétique à taux faible, et obtenir des informations utiles pour le déploiement de la technologie dans différents milieux.

Tri

Dans les pays développés, il convient d'utiliser les techniques de triage et de nettoyage des grains pour réduire la contamination par les mycotoxines, notamment pour les céréales contaminées par l'ergot de seigle, et pour les fruits à coque ou à gousse. Les sclérotés de l'ergot sont éliminés en les séparant des graines par gravité, pratique en place depuis longtemps. Pour les arachides, après un nettoyage sommaire de la récolte par les exploitants agricoles, des trieurs optiques électroniques à grande capacité permettent de retirer les graines contaminées par des aflatoxines (Whitaker et coll., 2005). Pour le maïs, les appareils de nettoyage ordinaires permettent de réduire la teneur en aflatoxine et en fumonisine de 50 à 60% (Malone et coll., 1998 ; Pacin et Resnik, 2012), ce qui est très inférieur à ce que l'on obtient par le tri manuel (Brekke et coll., 1975).

Peu après la découverte de l'aflatoxine en 1961, le tri est apparu comme une pratique courante et efficace pour améliorer la sécurité sanitaire des arachides. La nécessité de trouver des moyens efficaces pour éliminer les arachides contaminées a motivé des expériences sur les concentrations en aflatoxines des cacahuètes dont les gousses ne comportent pas de moisissures

visibles. Ces études ont révélé que le tri visuel permettait de séparer efficacement, au laboratoire, les graines les plus contaminées des graines moins contaminées. Malgré tout, certaines des arachides qui semblent saines peuvent contenir des taux substantiels d'aflatoxines (Cucullu et coll., 1966). Aux Etats-Unis, après leur avoir fait suivre 4 heures de formation sur les indices visuels de la contamination par *Aspergillus*, on a demandé à des personnes sans expérience préalable de trier visuellement des échantillons de cacahuètes qui avaient déjà été classées par des inspecteurs fédéraux suivant la procédure officielle, selon leur qualité (saines, abîmées, intermédiaires). Des erreurs de tri ont été observées dans le lot de cacahuètes considérées comme saines, erreurs que les auteurs ont attribuées essentiellement à des faux positifs, avec quelques faux négatifs et des erreurs d'échantillonnage (Dickens et Welty, 1969).

En 1968, le système d'inspection des Etats-Unis avait franchi une nouvelle étape en introduisant la recherche d'*Aspergillus* par l'examen visuel des grains abîmés. Après leur formation, les inspecteurs recevaient chacun un classeur avec deux séries de photos en couleur montrant ce qu'il fallait rechercher et ce qu'il n'y avait pas lieu de chercher. En attendant la mise au point des méthodes actuelles d'inspection, cette approche élémentaire s'est avérée utile (Goldblatt, 1973). Whitaker et coll. (1998) ont démontré que le tri visuel des cacahuètes constituait une première mesure réglementaire d'application pratique. Ils ont trouvé que les graines matures et les demi-graines saines contenaient environ 7% du contenu d'aflatoxines, les graines abîmées contenant le restant. Des études portant sur le tri manuel des grains

de maïs contaminés par les toxines de *Fusarium* montrent que ces stratégies marchent mieux quand on dispense une formation permanente (Desjardins et coll., 2000 ; van der Westhuizen et coll., 2010).

Une étude menée aux Philippines a montré que le tri manuel des lots d'arachide brute permettait de réduire la concentration d'aflatoxines, qui passait de 300 ng/g, à moins de 15 ng/g (Galvez et coll., 2003). Les recherches menées au Kenya (et en Haïti) démontrent que le tri manuel des arachides achetées sur les marchés locaux pourrait réduire d'environ 98% les concentrations d'aflatoxines dans les lots (Filbert et Brown, 2012).

Dans le cas du maïs en Afrique, le tri manuel est modérément efficace au niveau des villages pour sélectionner les lots de grains dont la teneur en aflatoxine est plus faible. L'élimination manuelle des grains visiblement moisissés, abîmés par les insectes et cassés a permis de réduire de 40% la teneur en aflatoxine, d'après une étude effectuée au Bénin (Fandohan et coll., 2005). Les études menées en Afrique du Sud et en République unie de Tanzanie ont montré que le tri manuel des grains de maïs par les cultivateurs locaux, par élimination des grains visiblement infectés ou abîmés, réduisait les concentrations de fumonisine de 20% (Kimanya et coll., 2009 ; van der Westhuizen et coll., 2010).

La volonté de trier manuellement les grains et les coques dépend de l'approvisionnement disponible (Kimanya et coll., 2008 ; van der Westhuizen et coll., 2010 ; et références citées dans ces articles). Une étude menée au Ghana a montré que la qualité des cacahuètes consommées augmentait avec le revenu des ménages et la formation agricole (Adu-Gyamfi, 2013). En Afrique du Sud, l'efficacité du tri manuel du maïs dans la réduction

des taux de fumonisine a été vérifiée à l'aide de biomarqueurs (van der Westhuizen et coll., 2011).

Dans les pays développés, on utilise essentiellement le tri des grains contaminés pour réduire la contamination des céréales et des fruits à coque/à gousse par les mycotoxines après la récolte et cette méthode peut être efficace à tous les niveaux de production.

Besoins en matière de recherche

Il est nécessaire d'adapter les équipements de tri optique disponibles sur le marché à la filière africaine de l'arachide, que ce soit pour des opérations de petite ou de grande taille.

La formation ciblée des femmes des zones rurales au tri manuel semble un bon investissement. En Afrique, la sécurité alimentaire représente la principale barrière à la mise en place du tri (Fandohan et coll., 2008). Il faut poursuivre les recherches pour trouver une utilisation pour les lots rejetés (e.g. Filbert et Brown, 2012).

Nixtamalisation

Au Mexique et en Amérique centrale et du Sud, la nixtamalisation est utilisée couramment depuis des millénaires. La fumonisine est pratiquement toute éliminée par l'hydrolyse qui se produit au cours de la production commerciale de pâte de nixtamal, ou masa. La masa est obtenue par ébullition des grains de maïs dans de l'eau de chaux, suivie d'un rinçage. Les proportions respectives de maïs, de chaux et d'eau utilisées ainsi que les pratiques de cuisson, de trempage et de rinçage peuvent varier (De La Campa et coll., 2004).

Aux Etats-Unis, la teneur en fumonisine des tortillas commercialisées par les grandes sociétés

est faible (Voss et coll., 2001). En revanche, toujours aux Etats-Unis, les masas produites de façon artisanale contiennent souvent de la fumonisine (De La Campa et coll., 2004 ; Dvorak et coll., 2008). Quand le lavage du produit traité à la chaux avant consommation, selon le processus traditionnel est suffisant, les concentrations de fumonisine et d'aflatoxine sont réduites (De Arriola et coll., 1988 ; De La Campa et coll., 2004 ; Méndez-Albores et coll., 2004 ; Guzmán-de-Peña, 2010). En Amérique latine, du fait de la variabilité du processus, il peut y avoir des résidus de fumonisine dans les tortillas (voir Dombrink-Kurtzman et Dvorak, 1999 ; Meredith et coll., 1999) et donc des expositions à la fumonisine (Gong et coll., 2008a).

Besoins en matière de recherche

Il a été démontré en Amérique latine que la nixtamalisation réduit l'exposition à l'aflatoxine et à la fumonisine. Il serait intéressant de pouvoir diffuser un condensé des connaissances sur les facteurs connus pour réduire les taux de fumonisine dans la masa résiduelle (De La Campa et coll., 2004).

Réduction de l'exposition aux aflatoxines et aux fumonisines par des stratégies d'intervention au niveau du stockage après récolte

La contamination des cultures par les mycotoxines peut se produire avant et après la récolte, suite à des pratiques agricoles inadéquates. La croissance fongique et la production de toxines peuvent se produire au champ (c'est le cas pour les fumonisines et les aflatoxines), au cours du stockage (aflatoxines) ou dans les deux situations. La croissance d'*Aspergillus flavus* et *A. parasiticus*

et l'accumulation d'aflatoxine sont favorisées par des taux d'humidité importants (> 85%), des températures élevées (> 25 °C), l'activité des insectes et des rongeurs, un mauvais séchage des récoltes, et l'infiltration d'eau dans les structures de stockage (Adegoke et Letuma, 2013).

La plupart des pays en développement sont situés dans les zones tropicales et sont soumis à la mousson, à des températures et à des taux d'humidité élevés qui sont responsables de pertes importantes après la récolte. Les mauvaises pratiques de stockage sont responsables de 20 à 50% de ces pertes. Même si c'est une des grandes priorités des Nations Unies depuis 1946 (Schulten, 1982), ces pertes restent un problème mondial, et augmentent le risque d'insécurité alimentaire (disponibilité des aliments, faim et valeur nutritionnelle) et de pauvreté (Hell et coll., 2008 ; Jayas, 2012 ; Kimatu et coll., 2012 ; Gitonga et coll., 2013 ; Guilou et Matheron, 2014). Le double fardeau de l'exposition chronique aux mycotoxines et de l'insuffisance alimentaire augmente la mortalité et la morbidité, spécialement chez les enfants (Bryden, 2007 ; IARC, 2012). Il faut donc appliquer après la récolte des mesures adéquates, pratiques, économiques et culturellement acceptables, pour tenter de résoudre les problèmes de sécurité alimentaire et de sécurité sanitaire des aliments, dans le but d'améliorer la santé des populations.

Dans les climats subtropicaux, le maïs est généralement infecté au champ par *A. flavus*, et à moins d'être séché très rapidement, les concentrations d'aflatoxines augmentent après la récolte (IARC, 2012). Les conditions de conservation des produits agricoles font ainsi partie intégrale des stratégies de prévention des mycotoxines (Marín

et coll., 2004 ; Choudhary et Kumari, 2010 ; Chulze, 2010). La plupart des conditions associées à la période postérieure à la récolte peuvent être contrôlées, à la différence de celles qui la précèdent. Les stratégies visant à réduire les niveaux de mycotoxines durant le stockage consistent essentiellement à : sécher les récoltes avant le stockage ; utiliser des installations de stockage propres, sèches et fermées ; avoir un bon drainage de l'eau ; disposer d'entrepôts bien aérés ; et éliminer l'activité des insectes et autres nuisibles comme les rongeurs et les oiseaux (Lanyasunya et coll., 2005 ; Turner et coll., 2005 ; Hell et coll., 2008).

Avant le stockage, il convient de faire sécher les récoltes sans tarder afin de réduire la prolifération fongique ; les taux d'humidité recommandés sont 10–13% pour les céréales et 7–8% pour les oléagineux (Hell et coll., 2008). Le stockage des récoltes se fait couramment : au champ ; sur le sol des maisons ; sur les toits ou en-dessous des toits des maisons ; dans des sacs de jute ou de polypropylène, des caissons grillagés, des fosses et des bacs en métal ; et dans des structures coniques ou autres greniers avec ou sans toit, en bois, en bambou, en chaume ou en boue (Hell et coll., 2010 ; Narrod, 2013 ; Abass et coll., 2014).

Peu de stratégies d'intervention ont fait leurs preuves en ce qui concerne le stockage des récoltes pour les petits cultivateurs pratiquant l'agriculture de subsistance. Turner et coll. (2005) ont mené une étude de terrain chez des cultivateurs d'arachide en Afrique occidentale (600 volontaires de 20 villages) pour identifier les moyens de réduire l'exposition aux aflatoxines. Ils ont mis en place un ensemble d'interventions spécifiques, et ils ont évalué leur impact sur les niveaux

d'exposition, en mesurant la teneur des arachides en aflatoxine B₁ (AFB₁) et les taux d'adduits aflatoxine-albumine (AF-alb) dans le sang des volontaires. L'ensemble des interventions comprenait le tri manuel des graines d'arachide (avec élimination des graines abîmées), le séchage des graines sur des nattes en fibres naturelles, l'estimation du temps de séchage au soleil, le stockage des cacahuètes décortiquées dans des sacs en fibres naturelles, la fourniture de palettes en bois pour y déposer les sacs, et l'utilisation d'insecticide (acétillite). Une réduction significative des adduits AF-alb sanguins (réduction de 58%) et des taux de contamination des arachides (réduction de 70%) a été observée. C'est la seule étude de ce type à avoir montré une réduction de l'exposition aux aflatoxines dans une population consommatrice d'arachide (Turner et coll., 2005).

En Afrique, le maïs mûrit dans des conditions de sécheresse et on le laisse souvent sécher au champ sur tige, tandis qu'en Asie de l'Est et du Sud-Est, le maïs est parfois récolté humide, entassé en piles et abandonné sur place pendant un certain temps pour lui laisser le temps de sécher (Pitt et coll., 2013). Le maïs est parfois décortiqué ce qui, associé aux pratiques de séchage, augmente les taux d'aflatoxines. Néanmoins, quand il est séché correctement, en dehors des champs et au-dessus du sol, le maïs est moins vulnérable aux insectes et à la prolifération fongique.

Le séchage au soleil du maïs et de l'arachide est pratique courante en Afrique ce qui, avec l'utilisation de plateformes, s'est révélé capable de réduire la croissance des moisissures toxigènes comme *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* (Hell et coll., 2008). Au Ghana, après la récolte, les gousses d'arachide sont

mises à sécher en petits tas (andains) que l'on retourne régulièrement, ce qui assure la circulation de l'air ainsi que l'exposition directe aux rayons du soleil. Cette méthode économique permet de sécher les gousses rapidement et suffisamment pour assurer la réduction des taux d'aflatoxines (Amoako-Attah et coll., 2007). Pour l'arachide, le séchage sur des surfaces en relief ou sur des nattes permet d'abaisser l'humidité des graines jusqu'à 8%, taux de sauvegarde pour lequel le risque de contamination par les aflatoxines est réduit (Waliyar et coll., 2013).

Kaaya et Kyamuhangire (2010) ont étudié en Ouganda l'effet des séchoirs à convecteurs naturels chauffés par la biomasse sur la qualité du maïs au cours du stockage. Au cours de cette étude, les chercheurs ont suivi les dégâts causés par les insectes, les moisissures, les aflatoxines et vérifié le potentiel de germination du maïs. Il est apparu que l'utilisation de ces séchoirs protégeait contre les dommages causés par les insectes, réduisait la contamination par les moisissures et les aflatoxines, et n'altérait pas la capacité de germination des graines. Ce mode de séchage s'est avéré également très efficace contre les pertes dues aux dégâts des insectes. Il a permis en outre de réduire l'utilisation d'insecticides, d'allonger la durée du stockage de 1,8 à 2,4 mois, d'améliorer la disponibilité des aliments de plus d'un mois et enfin de générer des emplois et faire progresser les revenus.

Pour remplacer le séchage au soleil, on a proposé des séchoirs solaires, qui permettent de sécher les céréales plus rapidement et plus efficacement et de mieux contrôler et assainir l'environnement (Sharma et coll., 2009 ; Ogunkoya et coll., 2011). L'échec des séchoirs solaires auprès de l'agriculture commerciale

a été attribué à leur coût, au fait que les procédures opérationnelles sont compliquées, et que les agriculteurs sont peu enclins à abandonner les méthodes traditionnelles (Ekechukwu et Norton, 1999). Les petits cultivateurs ont besoin de séchoirs solaires moins chers à l'achat ou à la construction et demandant peu d'entretien (Ogunkoya et coll., 2011). Parmi les différents types de séchoirs solaires disponibles, qui comprennent des séchoirs actifs (à convection forcée) et des séchoirs passifs (à circulation naturelle), les serres chaudes ventilées pourraient être les mieux adaptées aux petits cultivateurs ruraux, du fait de leur faible coût, de leur simplicité d'utilisation, et de la possibilité de les construire sur place, sur les lieux même de leur utilisation (Ekechukwu et Norton, 1999).

L'utilisation de sacs de stockage hermétiques, comme ceux proposés par le Projet d'amélioration du stockage des céréales de l'université de Purdue (*Purdue Improved Crop Storage*) semble efficace dans la lutte contre les insectes : elle augmente de 95 à 100% la mortalité des insectes dans les stocks de maïs (Baoua et coll., 2014 ; Hell et coll., 2014). L'efficacité des techniques de fermeture hermétique pour prévenir la prolifération fongique et la contamination par les mycotoxines qui en résulte semble dépendre du type et des caractéristiques particulières du produit agricole concerné. Le stockage des arachides dans les sacs Super Grain (sacs comportant plusieurs épaisseurs de polyéthylène fermés par une double fermeture à glissière avec curseur) a permis de réduire la croissance des moisissures productrices d'aflatoxines lors d'une étude expérimentale (Navarro et coll., 2012). D'après Mutegi et coll. (2013), la contamination des arachides est supérieure de 7 à 13% quand elles

sont stockées dans des sacs de polyéthylène plutôt que dans des sacs en polypropylène et en jute. Les sacs de jute sont considérés comme plus adaptés que les sacs de polyéthylène et de polypropylène, à condition que les denrées soient séchées convenablement avant le stockage ; les sacs de polyéthylène et de polypropylène sont peu aérés et n'absorbent pas l'humidité. Pour Turner et coll. (2005), les sacs en fibre naturelle de jute permettent une meilleure conservation des récoltes.

Besoins en matière de recherche

Il convient d'accorder une haute priorité à la recherche de stratégies à appliquer après la récolte et permettant d'en améliorer la conservation (Anankware et coll., 2012). Idéalement, il faudrait des technologies durablement et économiquement viables, pratiques, demandant peu de travail, qui soient largement disponibles, ne posent pas de problème de transport et permettent de réduire l'utilisation de produits chimiques (Hell et coll., 2010 ; Baoua et coll., 2014). Les interventions doivent pouvoir convenir aux petites parcelles aussi bien qu'aux exploitations commerciales des zones rurales. En Afrique subsaharienne, 80% des exploitants agricoles sont de petits cultivateurs, pratiquant une agriculture de subsistance (Mboya et Kolanisi, 2014), et il faut distinguer les techniques qui conviennent aux exploitations commerciales et celles qui peuvent s'appliquer aux petits cultivateurs dans les zones rurales.

L'acceptabilité culturelle des interventions dans les différents systèmes agricoles est également importante. C'est pourquoi il faut tester et valider sur le terrain l'efficacité, la viabilité économique et la pérennité des interventions post-récolte dans

les pays en développement (Strosnider et coll., 2006 ; De Groot et coll., 2013 ; Jones et coll., 2014). Pour s'assurer qu'elles sont bien suivies, il sera important de suivre étroitement leur mise en œuvre à grande échelle.

Outre l'absence de stratégies viables et bon marché, plusieurs obstacles s'opposent à l'amélioration de la conservation des denrées après la récolte, notamment le manque d'implication des pouvoirs publics et le manque de personnel formé, notamment en matière de vulgarisation agricole (Hell et coll., 2010). La mise en place de stratégies visant à protéger les récoltes durant leur stockage nécessitera inévitablement la coopération et la communication entre les gouvernements, les entités de recherche, les organisations non gouvernementales et autres parties intéressées (intermédiaires commerciaux, groupements de fermiers et de consommateurs), les entreprises de l'industrie agro-alimentaire et les cultivateurs.

En Afrique, la sensibilisation des cultivateurs aux risques sanitaires associés à l'aflatoxine et aux moyens de réduire l'exposition dépend de leur situation socioéconomique, de leur éducation, de la taille de leur exploitation, de leur participation à la vulgarisation agricole, de l'orientation du marché, de la motivation économique et de leurs perceptions (Kumar et Popat, 2010 ; Adegoke et Letuma, 2013). Il ne faut pas oublier les femmes qui, dans les zones agro-écologiques rurales des pays en développement, jouent un rôle important en tant que mères, éducatrices et femmes d'affaires chargées de la gestion du ménage et notamment de la nourriture, de la culture et de la vente des récoltes des petites exploitations. Dans certaines régions du Ghana et du Nigéria, les femmes n'arrivent pas à produire autant de maïs que les

hommes, ce qui s'explique par le manque d'accès aux sols fertiles, à la technologie ou aux innovations (Udoh et coll., 2000 ; Adu-Gyamfi, 2013). Au Ghana et au Nigéria, les femmes ont moins d'influence sur les décisions que les hommes (Ogunlela et Mukhtar, 2009 ; Adu-Gyamfi, 2013). En Afrique du Sud, la situation est différente ; les femmes dirigent 60% des ménages ruraux dans la Province du Cap oriental et gèrent elles-mêmes les fermes (Burger et coll., 2010). Il faut poursuivre les recherches sur le rôle des différences entre hommes et femmes dans la gestion du problème des mycotoxines, de façon à mener des campagnes d'éducation adaptées et à s'assurer que les femmes aient accès à l'information.

Les interventions post-récolte visant à réduire l'exposition aux mycotoxines doivent inclure des programmes d'éducation et de sensibilisation qui faciliteront l'adoption des meilleures pratiques. Les résultats d'une enquête menée dans les zones rurales d'Afrique du Sud au cours de laquelle Mboya et Kolanisi (2014) ont interviewé 260 familles de petits cultivateurs, montrent que peu de fermiers sont conscients des risques sanitaires liés aux mycotoxines. Des résultats similaires ont été obtenus dans une étude beaucoup plus importante (taille de l'échantillon : 2400) réalisée au Bénin, au Ghana et au Togo (James et coll., 2007). La mise en place de pratiques agricoles adaptées pourra se pérenniser si les campagnes d'information se répètent continuellement (Strosnider et coll., 2006 ; Jolly et coll., 2009). Il faudra mettre l'accent sur la qualité des denrées agricoles plutôt que sur la productivité pour les marchés nationaux (Kumar et Popat, 2010).

Les stratégies de prévention culturellement acceptables et validées d'après des données

factuelles permettent de faire les recommandations suivantes :

- Mettre en place des modules de transfert des connaissances, en partenariat avec les cultivateurs, les agents chargés de la vulgarisation agricole, les chefs traditionnels, les groupes religieux, les professionnels de santé et la société civile, en s'adressant plus particulièrement aux femmes.
- Être prêt à mettre en place des stratégies de prévention à grande échelle.
- En cas d'exposition chronique, appliquer en permanence l'ensemble des procédures recommandées.
- Inclure dans l'ensemble des mesures à appliquer : le tri manuel, le séchage rapide et correct (température élevée) des récoltes, leur stockage en surélévation et la lutte contre les insectes.
- Tenir compte du besoin urgent de construire des séchoirs solaires ou à biomasse et des structures de stockage à partir de matériaux disponibles localement.

Interventions utiles en situation d'urgence

Il s'est produit un nombre affligeant de cas d'aflatoxicose aiguë, notamment au cours des dix dernières années. Ceux qui subissent les effets les plus graves de l'intoxication aiguë à l'aflatoxine, à savoir la maladie et la mort, sont ceux qui sont les plus exposés à la consommation d'aliments contaminés (Lewis et coll., 2005). Il est donc impératif de mettre en œuvre tout ce qui est possible en termes d'interventions et de traitements pour réduire l'exposition humaine et animale aux aflatoxines lorsqu'éclatent des épidémies d'aflatoxicose.

On a cherché à savoir si les stratégies consistant à séquestrer les aflatoxines dans le tractus gastro-intestinal et à réduire leur

biodisponibilité pouvaient résoudre le problème qu'elles posent, de façon pratique, durable et économiquement viable. A moins d'éviter d'ingérer les aliments contaminés, aucune de ces stratégies d'intervention primaire n'offre de protection complète. L'argile montmorillonite surfine (NovaSil [NS]) et la chlorophylline ont été largement étudiées chez l'animal et chez l'homme, avec des résultats prometteurs en termes d'efficacité et d'innocuité. Des recherches sont en cours pour évaluer l'efficacité d'autres stratégies similaires qui ciblent l'adsorption intestinale, impliquant notamment des bactéries et des glucides non digestibles comme les glycanes, les glucomannanes, la cellulose et les peptidoglycanes.

Adsorbants intestinaux de l'aflatoxine

Les études décrivant les matériaux capables d'adsorber les aflatoxines au niveau des surfaces internes et/ou externes, réduisant ainsi leur biodisponibilité et leur absorption intestinale, ont récemment été examinées de façon critique (Kensler et coll., 2013 ; Miller et coll., 2014). Des études sur la faisabilité technique, les coûts et l'efficacité de diverses stratégies d'atténuation (notamment l'utilisation d'adsorbants et de capteurs de toxines) ont également été rapportées (Khlanguis et Wu, 2010). L'inclusion d'adsorbants dans l'alimentation a été proposée pour réduire la morbidité et la mortalité durant les épidémies d'aflatoxicose aiguë. Les produits les plus utilisés comme agents adsorbants et comme capteurs de toxines sont décrits brièvement ci-dessous.

Chlorophylle/chlorophylline

La chlorophylle et la chlorophylline sont des constituants naturels de l'alimentation humaine qui se sont avérés efficaces contre le cancer dans plusieurs modèles animaux (Dashwood et coll., 1998). Selon les hypothèses, ces produits agiraient comme capteurs de molécules en interceptant les agents cancérigènes comme l'AFB₁, et diminueraient ainsi leur biodisponibilité en empêchant leur absorption (Breinholt et coll., 1995).

Dans un essai clinique d'une durée de 4 mois réalisé en Chine, l'ingestion de 100 mg de chlorophylline à chaque repas a entraîné une réduction globale de 55% des taux urinaires médians d'adduits aflatoxine-N7-guanine par rapport au placebo (Egner et coll., 2001). Les résultats d'une étude croisée portant sur quatre volontaires aux Etats-Unis suggèrent que la consommation de chlorophylle ou de chlorophylline pourrait limiter la biodisponibilité des aflatoxines chez l'homme, de la même façon que chez l'animal (Jubert et coll., 2009). Le traitement prophylactique par la chlorophylline ou la complémentation de l'alimentation avec des aliments riches en chlorophylle peut représenter une mesure pratique permettant de réduire le risque d'aflatoxicose (Kensler et coll., 2013).

Argiles

L'utilisation de produits à base d'argile comme adsorbants de l'aflatoxine est une stratégie fréquemment utilisée pour réduire l'exposition chez les animaux. Les argiles à base de smectite dioctédrique (notamment la montmorillonite) sont couramment utilisées dans ce but. Les études antérieures ont

montré que l'inclusion de montmorillonite de calcium (NS – ou terre de Sommières) dans l'alimentation des animaux réduisait les effets nocifs de l'exposition à l'aflatoxine dans de nombreuses espèces animales et diminuait les taux d'aflatoxine M₁ (AFM₁) dans le lait de vache et de chèvre (Phillips et coll., 2008). Les isothermes d'adsorption à l'équilibre, la modélisation moléculaire et les études *in vivo* montrent que la terre de Sommières (NS) se lie à l'AFB₁ et à la fumonisine B₁ dans l'appareil digestif, réduisant ainsi sa biodisponibilité au niveau systémique (Phillips et coll., 2008 ; Robinson et coll., 2012).

Les essais préliminaires réalisés au Ghana et au Texas (Etats-Unis) n'ont pas mis en évidence d'effets nocifs sur la santé humaine (Phillips et coll., 2008 ; Johnson et coll., 2009 ; Mitchell et coll., 2013). D'après les études chez l'animal et chez l'homme, la terre de Sommières (NS) n'altère pas de façon significative les taux de vitamines et de sels minéraux. Globalement, l'utilisation de terre de Sommières lors des épidémies d'aflatoxicose aiguë s'avère une stratégie sûre et pratique pour les populations vulnérables à haut risque d'exposition (Mitchell et coll., 2014).

Les autres produits capables de séquestrer l'aflatoxine comprennent les bactéries lactiques (El-Nezami et coll., 2000, 2006 ; Hernandez-Mendoza et coll., 2009 ; Dalié et coll., 2010 ; Pizzolitto et coll., 2011) et les levures (Baptista et coll., 2002 ; Diaz et coll., 2004 ; Stroud, 2006 ; Kutz et coll., 2009 ; Pizzolitto et coll., 2011 ; Fruhauf et coll., 2012).

Besoins en matière de recherche

Quelle que soit l'espèce, ce sont les jeunes qui sont les plus vulnérables aux aflatoxines et les enfants sont les premières victimes

des épidémies d'aflatoxicose. Les essais publiés à ce jour concernent essentiellement les adultes, et l'on ne sait pas bien quelles stratégies utiliser en situation d'urgence pour protéger les nourrissons et les enfants.

D'autres études sont nécessaires pour évaluer l'effet de la dose d'aflatoxine et de la durée de l'exposition sur l'efficacité et l'innocuité de la terre de Sommières et de la chlorophylline dans les populations vulnérables, notamment chez les bébés et les enfants souffrant de malnutrition et chez les femmes enceintes.

Il est également nécessaire d'effectuer des recherches pour : déterminer l'effet des mélanges de terre de Sommières, de chlorophylline et d'autres adsorbants ; évaluer l'efficacité des combinaisons d'adsorbants et de chimioprotecteurs ; identifier les stratégies efficaces et durables pour traiter l'aflatoxicose aiguë et conduire des essais cliniques selon les différentes phases.

Etudes de chimioprévention

Dithioléthiones (oltipraz)

L'oltipraz, une 1,2-dithiole-3-thione substituée, a été développée à l'origine par l'industrie pharmaceutique comme traitement de la schistosomiase et étudiée extensivement dans des essais cliniques réalisés au début des années 1980. Les études ultérieures ont montré, chez le rat et la souris, que l'oltipraz et certaines 1,2-dithiole-3-thiones étaient des inducteurs puissants des enzymes associées au maintien des réserves de glutathion sous forme réduite, ainsi que des enzymes impliquées dans la détoxification des agents cancérigènes, présentes dans de nombreux tissus (Ansher et coll., 1983, 1986).

Les biomarqueurs de l'aflatoxine ont été utilisés comme critères d'évaluation intermédiaires dans un essai de phase IIa de l'oltipraz à Qidong, en Chine (Kensler et coll., 1998 ; Wang et coll., 1999). Il s'agissait d'une étude en double aveugle, contrôlée contre placebo, dans laquelle les participants étaient choisis de façon aléatoire pour recevoir le placebo, une dose quotidienne de 125 mg d'oltipraz, ou une dose hebdomadaire de 500 mg d'oltipraz. Chez les participants qui recevaient la dose hebdomadaire de 500 mg, les taux d'AFM₁ urinaire étaient de 51% inférieurs à ceux du groupe placebo. Les taux médians d'aflatoxine conjuguée à l'acide mercapturique (dérivé conjugué du glutathion) étaient 6 fois plus élevés dans le groupe recevant 125 mg mais restaient inchangés dans le groupe recevant 500 mg. L'augmentation des taux de conjugués aflatoxine-acide mercapturique reflète l'induction de la conjugaison de l'aflatoxine sous l'action des glutathion S-transférases. L'absence apparente d'induction dans le groupe à 500 mg est due probablement à la diminution de la formation d'aflatoxine-8,9-époxyde susceptible de se conjuguer du fait de l'inhibition du CYP2A observée dans ce groupe. Cette étude initiale démontre pour la première fois que les biomarqueurs de l'aflatoxine sont modulés chez l'homme d'une façon qui devrait permettre de prédire une diminution du risque de maladie.

Sulforaphane

Même si l'essai clinique de l'oltipraz démontre qu'il est capable d'activer plusieurs voies de détoxification de l'aflatoxine chez l'homme, l'application de ce mode de prévention médicamenteux aux

pays en développement semble difficile. Heureusement, l'oltipraz n'est pas le seul agent capable d'affecter les enzymes de la voie Nrf2-Keap1. De nombreux aliments possèdent des taux élevés d'inducteurs de ces enzymes (Talalay et Fahey, 2001 ; Fahey et Kensler, 2007). Une boisson à base d'infusion de pousses de brocoli de 3 jours, contenant des concentrations définies de glucosinolate, précurseur stable du sulforaphane connu comme anticarcinogène, a été étudiée pour sa capacité à altérer la disponibilité de l'aflatoxine (Kensler et coll., 2005). Le sulforaphane, qui a été étudié de façon extensive pour ses propriétés chimiopréventives, est un activateur puissant de la voie Nrf2-Keap1 ; il augmente l'expression des enzymes qui détoxifient les agents cancérigènes (Fahey et coll., 2002 ; Dinkova-Kostova et coll., 2007). Dans l'étude menée à Qidong, en Chine, 200 adultes en bonne santé ont bu chaque nuit, pendant 2 semaines, des infusions contenant soit 400 µmol soit moins de 3 µmol de glucoraphanine (glucosinolate précurseur du sulforaphane). Les taux urinaires d'adduits aflatoxine-N7-guanine étaient les mêmes dans les deux bras d'intervention. Néanmoins, le dosage des taux urinaires de dithiocarbamates (métabolites du sulforaphane) a montré d'importantes variations interindividuelles de leur biodisponibilité. Ce résultat pourrait refléter des différences dans les taux d'hydrolyse de la glucoraphanine en sulforaphane par la microflore intestinale des participants à l'étude. En effet, une association négative significative a été constatée entre l'excrétion de dithiocarbamates et les taux d'adduits aflatoxine-N7-guanine chez les individus qui avaient ingéré les glucosinates des pousses de brocoli (Kensler et coll., 2005).

Cette étude préliminaire ouvre de nouvelles perspectives sur la possibilité de prévention secondaire par une approche alimentaire, bon marché et facile à appliquer dans les populations à haut risque d'exposition à l'aflatoxine. A la suite de ces résultats, une étude d'intervention, actuellement en cours, a été lancée pour essayer minimiser la variabilité interindividuelle de la pharmacocinétique de la glucoraphanine, précurseur du sulforaphane.

Polyphénols du thé vert

De nombreuses études ont montré que les polyphénols présents dans le thé vert (PTV) inhibent divers cancers chimio-induits chez les animaux de laboratoire (Moyers et Kumar, 2004 ; Yang et coll., 2006). Qin et coll. (1997) ont étudié chez le rat si l'administration de PTV dans l'eau de boisson pendant 2 ou 4 semaines pouvait inhiber la cancérogenèse hépatique induite par l'AFB₁. Les résultats obtenus

avec les PTV chez les animaux de laboratoire ont stimulé la mise en route d'essais cliniques chez l'homme. Une étude de phase IIa randomisée, en double aveugle, contrôlée contre placebo a été menée dans le Guanxi, en Chine, pour évaluer l'effet des PTV sur les biomarqueurs de l'aflatoxine, chez des sujets exposés et à haut risque de cancer du foie. Les participants, qui présentaient tous des adduits AF-alb au début de l'étude, ont reçu tous les jours pendant 3 mois des capsules de PTV dosées à 500 mg ou 1000 mg, ou un placebo. L'analyse des prélèvements d'urine a permis d'identifier des biomarqueurs de la consommation de thé vert et de montrer que la consommation de PTV diminue efficacement les lésions oxydatives de l'ADN (Luo et coll., 2006). L'analyse des échantillons de sang et d'urine recueillis au cours de l'étude a montré une réduction, sous l'effet du traitement, des taux de biomarqueurs de l'aflatoxine : adduits AF-alb

sériques et AFM₁ urinaire. A l'issue des 3 mois de l'étude, les deux groupes qui avaient pris des PTV avaient des taux d'AF-alb réduits par rapport aux témoins n'ayant pas bénéficié de l'intervention (Tang et coll., 2008).

Besoins en matière de recherche

Les recherches ont permis d'établir que la chimioprévention avec les agents mentionnés plus haut est efficace dans les modèles animaux pertinents et que le mécanisme impliqué s'applique à l'homme. Les mêmes polyphénols et sulforaphanes existent à l'état naturel dans les plantes, et sont présents dans plusieurs espèces végétales des pays en développement affectés par les aflatoxines. Il faut mener des recherches pour identifier les plantes cultivées et consommées localement qui contiennent ces agents chimioprotecteurs naturels à des taux suffisants pour être protecteurs, et les tester.