

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : *Mycologie et biotechnologie fongique*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Evaluation des principales méthodes analytiques de détection
des mycotoxines produites par des moisissures
contaminants les céréales.**

Présenté par : KHANFAR Malek
BENLAHRECHE Nourelhouda
ZAOUNI Marwa

Le 21/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mme BOULTIFAT Linda (MCB - UFM, Constantine 1).

Examineur 1 : Mme LEGHLIMI Hind (MCA- UFM, Constantine 1).

Examineur 2 : Mr BOULAHROUF Khaled (MCB - UFM, Constantine 1).

Année universitaire
2021 – 2022

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : *Mycologie et biotechnologie fongique*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Evaluation des principales méthodes analytiques de détection
des mycotoxines produites par des moisissures
contaminants les céréales.**

Présenté par : KHANFAR Malek

Le 21/06/2022

BENLAHRECHE Nourelhouda

ZAOUNI Marwa

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mme BOULTIFAT Linda (MCB - UFM, Constantine 1).

Examineur 1 : Mme LEGHLIMI Hind (MCA - UFM, Constantine 1).

Examineur 2 : Mr BOULAHROUF Khaled (MCB - UFM, Constantine 1).

Remerciements

En préambule à ce mémoire nous remercions Allah qui nous aidé et nous a donné la patience et le courage durant ces longues années d'études.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à notre encadreur Mme BOULTIFAT Linda, Maître de conférences à l'université Frères Mentouri Constantine 1, pour son savoir-faire, son soutien moral, sa disponibilité, sa gentillesse et le degré d'humanisme dont elle fait preuve.

Nos remerciement s'adressent également à :

Mme LEGHLIMI. H et Mr BOULAHROUF. K (Maitres de conférences à

l'Université Frères Mentouri constantine1)

Nous vous offrons toute la gratitude pour vos sympathies. Nous sommes particulièrement honorés par votre présence dans ce jury.

Nos Vifs remerciements s'adressent à tous nos enseignants qui nous ont aidés de près ou de loin.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à

*Aux deux personnes les plus adorables au monde mes chers parents, à qui je
dois beaucoup d'amour et de respect ; que Dieu me les gardes.*

A mes sœurs Maram et Hiba, mon frère Housseem et toute ma famille ;

A mes amies pour l'encouragement et le soutien.

*Et à tous les étudiants de ma promotion 2021/2022 de Master Mycologie et
Biotechnologie Fongique.*

MALEK

Dédicace

Ce travail est réalisé pour satisfaire la soif d'une femme qui m'a toujours poussé et encouragé pour faire de moi une étoile dans le ciel : ma mère que Dieu nous la garde.

A mon père pour tous ses efforts, pour le bien de notre famille à qui je souhaite une longue et

Joyeuse vie.

A mon mari Ishak qui a toujours été présent et m'a soutenu dans les moments difficiles, pour

son aide, ses encouragements sans cesse renouvelés,

A ma petite chère sœur Bouchra, ma grande soeur Maram et mon frère Mousaab.

Ainsi qu'à toute ma famille zaouni et ma belle-famille chabi.

A mes amies proches Amani .houaida

MARWA

Dédicace

*Je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir aidé à achever ce modeste travail
que je dédie :*

*À mes chers parents, pour l'éducation qu'ils
m'ont prodiguée avec tous les moyens et au prix de tous les sacrifices*

*qu'ils ont consentis à mon égard,
pour leur patience, leur amour et leur encouragement.*

Que ce travail leur apporte joie et fierté ;

À mes chers frères, et à toute ma

Famille ;

À mes très chers amis pour leurs aide et soutiens.

NOURELHOUDA

Table des matières

Liste des abréviations.....	i
Liste des figures.....	iv
Liste des tableaux.....	v
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Introduction.....	1

Chapitre I : Les moisissures productrices de mycotoxines

1. Introduction.....	3
2. Caractéristiques morphologiques générales.....	3
3. Mode de reproduction.....	4
3.1. Reproduction sexuée.....	4
3.2. Reproduction asexuée.....	4
4. Les moisissures toxigènes.....	5
4.1. Le genre <i>Aspergillus</i>	5
4.1.1. Caractères cultureux.....	6
4.1.2. Caractères microscopiques.....	6
4.1.3. Pouvoir pathogène.....	7
4.2. Le genre <i>Fusarium</i>	7
4.2.1. Caractères cultureux.....	8
4.2.2. Caractères microscopiques.....	8
4.2.3. Pouvoir pathogène.....	9
4.3. Le genre <i>penicillium</i>	10
4.3.1. Caractères cultureux.....	11
4.3.2. Caractères microscopiques.....	11

4.3.3. Pouvoir pathogène	12
--------------------------------	----

Chapitre II: Les mycotoxines

1. Généralités	13
2. Historique.....	13
3. Les principales mycotoxines.....	14
3.1. Les aflatoxines	14
3.2. L'ochratoxine A	15
3.3. Les trichothécènes.....	16
3.3.1. Le déoxynivalénol	16
3.3.2. La toxine T-2.....	17
3.4. La zéaralénone	18
3.5. Les fumonisines	18
3.6. La citrinine.....	19
3.7. La patuline	20
4. La contamination des céréales par les mycotoxines.....	21
5. Les conditions de contaminations des aliments par les moisissures.....	22
5.1. Facteurs physiques	22
5.1.1. L'activité en eau (Aw)	22
5.1.2. La température.....	23
5.1.3. L'oxygénation.....	23
5.2. Facteur temps.....	24
5.3. Facteurs chimiques.....	24
5.3.1. Le pH	24
5.3.2. La composition chimique du substrat	24
5.4. Facteurs biologiques.....	25
5.4.1. L'intrication microbienne.....	25
5.4.2. La présence d'insectes	25

6. La mycotoxinogénèse	25
6.1. Facteurs intrinsèques	28
6.2. Facteurs extrinsèques	28
6.3. Facteurs biologiques.....	31

Chapitre III: Les méthodes d'analyses et de prévention

1. Méthodes d'analyse des mycotoxines	32
1.1. Méthodes physico-chimiques	32
1.1.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)	32
1.1.2. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	33
1.2. Méthodes immunologiques.....	35
1.2.1. Méthode ELISA.....	35
1.3. Avantages et inconvénients des méthodes analytiques	37
2. Méthodes de prévention.....	39
2.1. Méthodes naturelles.....	39
2.2. Méthodes physiques	39
2.3. Méthodes chimiques.....	40
2.4. Méthodes biologiques.....	40
2.5. Nouvelles méthodes de prévention	41
Conclusion.....	42
Références bibliographiques.....	44

Annexes

Liste des abréviations et acronymes

µg : Microgramme

µm : Micromètre

15 ADON : 15-Acétaldéoxynivalénol

3 ADON : 3-Acétaldéoxynivalénol

A. : *Aspergillus*

ADN : Acide désoxyribonucléique

AF B1 : Aflatoxine B1

AF B2 : Aflatoxine B2

AF G1 : Aflatoxine G1

AF G2 : Aflatoxine G2

AF M1 : Aflatoxine M1

AF : Aflatoxine

ARN : Acide ribonucléique

ATA : Aleucie Toxique Alimentaire

Aw : Activité de l'eau

BHA : Hydroxyanisole butylé

BHT : Hydroxytoluène butylé

°C : Degré Celsius

CCM : Chromatographie sur couche mince

CIT : Citrinine

CLHP : Chromatographie liquide haute performance

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

DON : Déoxynivalénol

ELISA : *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*

F : *Fusarium*

FAO : *Food and Agriculture Organisation*

FB : Fumonisine

FB1 : Fumonisine 1

FB2 : Fumonisine 2

FB3 : Fumonisine 3

FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

HPLC : *High pressure liquid chromatography*

IAC : Colonne immuno-affinité

Kg : Kilogramme

LC-MS/MS : Chromatographie Liquide – Spectrométrie de Masse (*Liquid Chromatography – Mass Spectrometry*)

NIV : Nivalénol

OTA : Ochratoxine A

P. : *Penicillium*

PAT : Patuline

PDA : potato dextrose agar

pH : potentiel d'hydrogène

PP : Parabène de propyle

ppb : Partie par billions

ppm : Partie par millions

RF : Rapport Frontal

RIA : Radioimmunos dosage

SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise

TLC : *Thin Layer Chromatography*

tR : Temps de rétention

T-2 : Toxine T-2

UV : Ultra-violet

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

ZEA : Zéaralénone

Liste des figures

Figure 1. Schématisation de la reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure.....	5
Figure 2. Principaux caractères morphologiques des <i>Aspergillus</i>	7
Figure 3. Aspect microscopique des conidies des <i>Fusarium</i>	9
Figure 4. Symptômes de la fusariose sur céréales : épis d'orge avec des grains fusariés (A et B), grains d'orge fusariés (C) et grains de blé ridés avec une décoloration rosâtre (D)	10
Figure 5. Principaux caractères morphologiques des <i>Penicillium</i>	12
Figure 6. Structure chimique des principales aflatoxines (B1, B2, G1, G2, M1)	15
Figure 7. Structure chimique de l'ochratoxine A (OTA).	16
Figure 8. Structure chimique du déoxynivalénol (DON).	17
Figure 9. Structure chimique de la toxine T-2.	18
Figure 10. Structure chimique de la zéaralénone (ZEA)	18
Figure 11. Structure chimique de fumonisine (FB).....	19
Figure 12. Structure chimique de citrinine (CIT).....	20
Figure 13. Structure chimique de la patuline (PAT).	20
Figure 14. Exemple d'élution en chromatographie sur couche mince.....	33
Figure 15. Conception générale d'un appareil d'HPLC.	34
Figure 16. Les différentes étapes du test ELISA.....	36

Liste des tableaux

Tableau 1. Occurrence des mycotoxines dans les céréales à travers le monde	22
Tableau 2. Les principales moisissures productrices de mycotoxines	27
Tableau 3. Influence du pH sur la production de fumonisine B1 par <i>Fusarium proliferatum</i>	29
Tableau 4. Influence de la température sur l'élaboration de zéaralinone et déoxynivalinol par <i>Fusarium graminearum</i>	30
Tableau 5. Comparaison des caractéristiques des deux types de CLHP	35
Tableau 6. Avantages et inconvénients des techniques analytiques les plus couramment utilisées dans la détermination des mycotoxines	38

Résumé

Résumé

Les moisissures sont des contaminants fréquents de nombreux substrats d'origine végétale. Leur présence peut améliorer la qualité organoleptique du produit ou, au contraire, l'altérer et conduire à l'accumulation de métabolites secondaires toxiques. Notre étude, basée sur une recherche bibliographique, qui traite les moisissures toxigènes contaminant les céréales, destinées à l'alimentation humaine et animale, a pour but de présenter et d'évaluer les différentes techniques d'analyse et de détection des mycotoxines, car le contrôle de ces substances dans l'alimentation, est d'une extrême importance en raison de la toxicité et du danger qu'elles peuvent présenter pour la santé des consommateurs. Cette étude suggère que parmi les méthodes présentées : CCM, ELISA et l'HPLC semble être une technique de premier choix en matière d'efficacité et constitue de ce fait un excellent moyen pour l'analyse et la détection des mycotoxines.

Mots clés : Les céréales, Moisissures toxigènes, Mycotoxines, CCM, HPLC, ELISA.

Abstract

Molds are frequent contaminants of many plant substrates. Their presence can improve the sensory quality of the productive member, or otherwise, changing it and making it lead to the accumulation of toxic secondary metabolites. Our study, based on a bibliographic research, that treats toxigenic molds contaminating cereals, intended for human and animal food, aims to present and evaluate the different techniques of analysis and detection of mycotoxins, because the control of these substances in food, is of extreme importance because of the toxicity and the danger that they can present for the health of consumers. This study suggests that among the methods provided: TLC, ELISA, the HPLC technique may appear to be a first choice in terms of effectiveness and therefore an excellent way to analyze detected fungal toxins.

Keywords: Cereals, toxigenic molds, country toxins, TLC, CLHP, ELISA.

ملخص

يعد العفن من الملوثات الشائعة للعديد من المواد ذات اصل نباتي. يمكن أن يؤدي وجودها إلى تحسين الجودة الحسية للمنتج أو عكس ذلك ، تغييره و تؤدي إلى تراكم المستقلبات الثانوية السامة. تعتمد دراستنا على البحث البيولوجرافي الذي يعالج العفن السمي الملوث للحبوب المخصصة للتغذية البشرية و الحيوانية، تهدف الى تقديم و تقييم التقنيات المختلفة للتحليل و الكشف عن السموم الفطرية، لان مراقبة هذه المواد في الغذاء، ذو اهمية قصوى بسبب السمية و الخطر الذي يمكن ان تشكله على صحة المستهلكين. تشير هذه الدراسة إلى أنه من بين الطرق المقدمة: CCM ، ELISA ، و الـ HPLC تبدو هذه الاخيرة أنها تقنية من الخيار الأول من حيث الفعالية وتشكل بالتالي وسيلة ممتازة للتحليل و الكشف عن السموم الفطرية.

كلمات المفتاح: الحبوب، العفن السمي، السموم الفطرية ، CCM, HPLC, ELISA

Introduction générale

L'homme consomme des aliments de différentes origines animale ou végétale, qu'ils soient crus ou cuits, trouvés dans l'environnement et prélevés directement dans la nature ou transformés par l'industrie agroalimentaire. Lorsque tous ces aliments contiennent des produits chimiques toxiques (métaux lourds, toxines de bactéries ou de champignons, hydrocarbures aliphatiques, pesticides, etc.) ou des agents pathogènes biologiques (virus, bactéries, champignons), ils ont le potentiel de devenir de véritables vecteurs de maladies. Ces conditions pathologiques sont presque toujours associées à diverses contaminations dues au manque d'hygiène, à de graves erreurs de préparation ou de conservation des aliment, et à l'absence de la maîtrise des bonnes pratiques d'agriculture, de fabrication, de stockage et de distribution.

L'impact sur la santé humaine et l'économie, qui résulte de la dégradation de la qualité nutritionnelle et hygiénique des aliments est énorme à l'échelle mondiale. Compte tenu des progrès industriels, économiques et sociaux mondiaux au cours des deux derniers siècles et de l'augmentation spectaculaire de la production et de la distribution d'aliments, pour répondre aux besoins nutritionnels de la population mondiale, la prévention de la contamination des aliments par des agents pathogènes est de plus en plus une priorité.

Parmi les agents pathogènes pouvant contaminer différents produits alimentaires, les champignons producteurs de mycotoxines représentent une réelle menace pour la santé humaine et animale.

De même, parmi les substrats dans lesquels les champignons et leurs métabolites peuvent se développer, les céréales et les produits à base de céréales de l'alimentation humaine et animale sont les ingrédients les plus courants. Ces derniers poussent dans les régions tropicales caractérisées par une température et une humidité relative élevées, tout en étant très appropriés pour la croissance des moisissures. Les cultures peuvent être contaminées par des mycotoxines dans les champs ou pendant la récolte, le transport ou le stockage.

Aujourd'hui, les mycotoxines sont présentes dans une grande variété d'aliments. Selon les estimations de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO), un quart de la production mondiale en céréales est contaminée (Navale et *al.*, 2021), causant 5 à 10 % de pertes économiques. Outre l'impact économique, les mycotoxines posent un véritable problème de santé publique car l'exposition à ces toxines peut provoquer des

intoxications aiguës ou chroniques. La cancérogénicité, l'immunotoxicité, la néphrotoxicité, l'hépatotoxicité et la neurotoxicité constituent une série d'effets délétères des mycotoxines.

Dans ce contexte, notre travail théorique a pour objectif de décrire et d'étudier les principales techniques analytiques de détection des mycotoxines, produites par des moisissures contaminant différentes céréales destinées à l'alimentation humaine et animale.

Les axes de ce mémoire s'articulent autour de trois chapitres :

Le premier est consacré à la présentation des principales moisissures productrices de toxines contaminant principalement les céréales ;

Le deuxième chapitre comporte les principales mycotoxines et les conditions qui favorisent leur production ;

Le troisième chapitre aborde principalement les techniques analytiques et les différentes méthodes de prévention.

*Chapitre I : Les moisissures productrices de
mycotoxines*

1. Introduction

Le terme «moisissure» est utilisé dans le langage courant pour désigner les champignons microscopiques. Ce sont des micro-organismes eucaryotes dont les cellules s'allongent pour former des filaments coénocytiques (non cloisonnés) ou septés (cloisonnés) d'environ 2 à 12 μm de diamètre. L'enchevêtrement des filaments donne naissance à un mycélium visible à l'œil nu sur les milieux de culture (colonie fongique) ou les substrats colonisés. Ces champignons sont généralement hétérotrophes saprophytes et capables de se propager dans différents environnements grâce à leurs aptitudes métaboliques étendues. Ils se reproduisent par voie sexuée et se multiplient végétativement en générant de nombreuses spores de dissémination. La classification des champignons repose sur les caractéristiques des filaments (champignons inférieurs et champignons supérieurs), des cultures, de reproduction sexuée, de multiplication végétative, physiologique et moléculaire. Les champignons filamenteux sont ubiquitaires, retrouvés dans l'air, l'eau, les sols, sur les plantes vivantes ou en décomposition ainsi que les matières premières... (Carlotti, 2014).

Les caractéristiques biologiques des moisissures sont si intéressantes que certaines sont utilisées dans l'alimentation comme le *Penicillium roquefortii* pour la production de fromages, d'autres sont utilisées pour la production de médicaments comme la pénicilline produite par *Penicillium chrysogenum*. Les moisissures n'ont malheureusement pas que des effets bénéfiques, elles possèdent également de nombreuses activités néfastes comme l'altération des produits alimentaires, le parasitisme chez l'homme, les animaux et les plantes. Certains produits du métabolisme secondaire comme les mycotoxines peuvent avoir des effets nocifs divers pour la santé et par conséquent, représenter une grave menace pour les êtres humains et les animaux. Ces toxines sont relativement stables et leur toxicité peut persister longtemps. Les effets nocifs peuvent être immédiats, comme l'intoxication aiguë, ou sur le long terme, comme la déficience immunitaire ou le cancer (Basset et Laffont, 2011 ; Hissein et al., 2019).

2. Caractéristiques morphologiques générales

Parmi les principaux caractères morphologiques des moisissures, on retrouve :

- Paroi: Les moisissures présentent des parois cellulaires, qui sont différentes de celles des plantes, elles sont composées de chitine et non de cellulose (Indge, 2004).

- Noyaux : ils sont minuscules, et dépourvus de chlorophylle et de pigments assimilateurs (Genevès, 1990 ; Genevès, 1992).

- Mitochondries : existent dans le cytoplasme, de forme circulaire, ovale ou allongée. Souvent assez petites, dont les crêtes sont en général moins nombreuses et moins développées que chez les cormophytes (organismes végétaux) ou les animaux.

- Membrane plasmique (ou plasmalemme) : similaire à celle des autres eucaryotes, consistant en une bicouche de phospholipides et des protéines et stérols associés (Nasraoui, 2015).

- Thalle : le corps ou le thalle d'une moisissure est constitué de deux parties : Le mycélium et les spores. Le mycélium est un ensemble de plusieurs filaments appelés hyphes possédant un cytoplasme commun. Chaque hyphe mesure entre 5 à 10 μm de diamètre (Ait Abdelouahab, 2001).

3. Mode de reproduction

Les moisissures se reproduisent grâce à des spores, qui sont issues soit d'une reproduction sexuée (champignon téléomorphe) ou d'une multiplication asexuée (champignon anamorphe). Certains champignons filamenteux ou moisissures, chez lesquels, les deux formes coexistent sont appelés holomorphes.

3.1. Reproduction sexuée

La reproduction sexuée, implique la rencontre de deux mycéliums de signes sexuels opposés. Un mycélium à n chromosomes va rencontrer un autre mycélium à polarité complémentaire pour donner lieu à la fusion des cytoplasmes, ce qui engendre un nouveau mycélium à $2n$ chromosomes (Figure 1) (Boudih, 2011).

3.2. Reproduction asexuée

La multiplication asexuée, au cours de laquelle une spore ou un fragment de mycélium croît et se développe sur un substrat. Le mycélium émet des conidiophores à l'extrémité desquels des conidies sont émises puis disséminées (Figure 1) (Boudih, 2011).

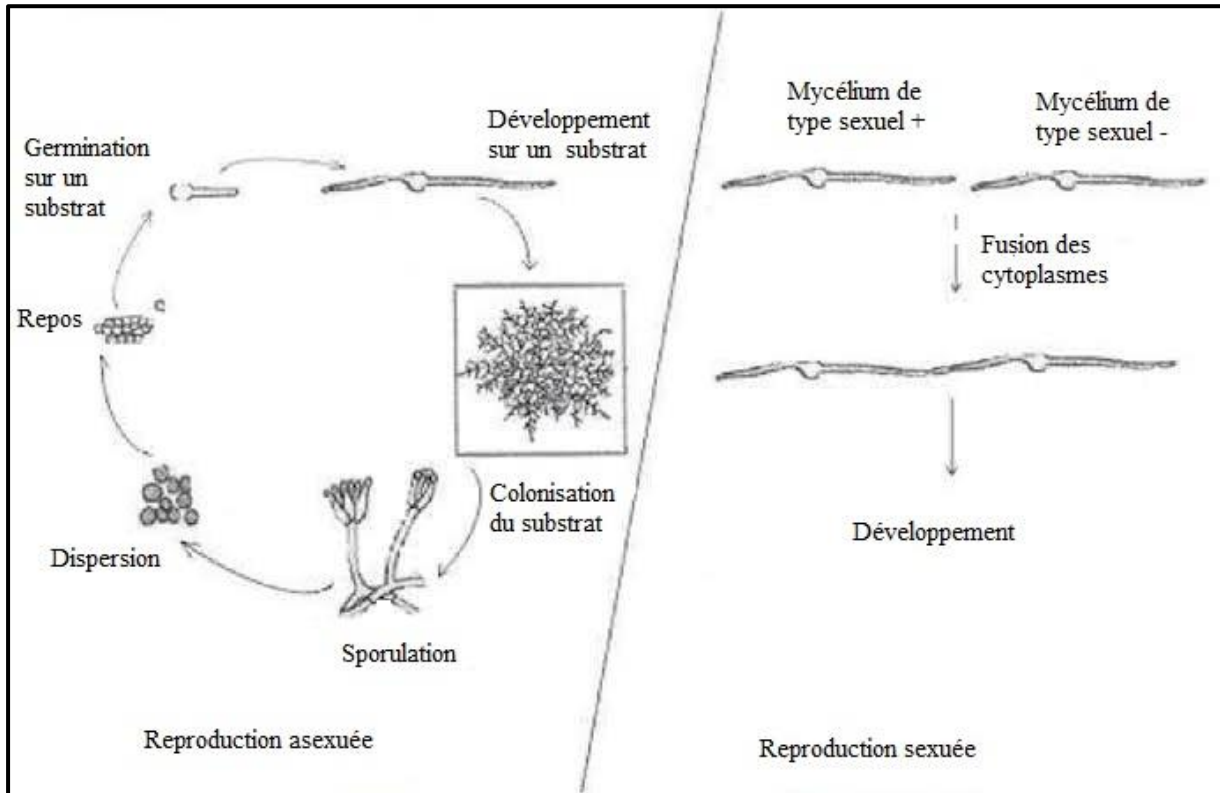


Figure 1. Schématisation de la reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure

(Boudih, 2011).

4. Les moisissures toxigènes

Les moisissures toxigènes peuvent être classées en deux groupes principaux. Elles sont fréquemment classées en fonction de l'origine de la contamination, ainsi on distingue les moisissures de champs qui colonisent les plantes lors de leurs croissances et les moisissures de stockage qui apparaissent après la récolte pendant la conservation du matériel végétal. Le genre *Fusarium* est fréquemment rencontré dans les contaminations de champs, alors que les genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont les représentatifs des moisissures de stockage. Dans les deux cas la contamination se fait par l'intermédiaire des spores qui séjournent dans le sol et qui se développent sur les débris des plantes ou les grains abandonnés sur le sol après la récolte (Jouany et al., 2006).

4.1. Le genre *Aspergillus*

Le genre *Aspergillus* appartient à la classe des Ascomycètes au sous-embranchement des Ascomycotina (Hocking, 2006 ; Tabuc, 2007). Il regroupe des espèces filamenteuses, cosmopolites et ubiquitaires. Elles sont le plus souvent saprophytes, retrouvées

principalement dans le sol, les céréales, les aliments et le compost en décomposition (Samson et Varga, 2009).

Ce genre a un grand impact dans divers domaines de recherche et de nombreuses espèces sont importantes en tant qu'agents pathogènes humains et animaux, agents de détérioration des aliments, producteurs de métabolites toxiques, ou d'autre part, en tant que micro-organismes utiles dans la fermentation alimentaire et les applications biotechnologiques (Samson et Varga, 2009).

4.1.1. Caractères culturaux

Les *Aspergillus* présentent une croissance rapide sur les milieux de culture classiques (gélose au malt, Sabouraud) additionnés d'antibiotiques. Après 48 heures d'incubation, on observe des colonies plates, formées de courts filaments aériens, blancs ; après 96 heures d'incubation, les colonies vont prendre leur teinte caractéristique, brune, verte, jaune ou noire selon les espèces (Tabuc, 2007).

Ils forment des colonies souvent poudreuses ou granuleuses. La couleur des colonies permet une orientation rapide dans l'identification des espèces : gris-vert pour *A. fumigatus*, vert-jaune pour *A. flavus* et les espèces du groupe *A. glaucus*, vert foncé à chamois pour *A. nidulans*, brun cannelle pour *A. terreus*, chamois clair, jaune et rose pour *A. versicolor*, jaune puis noir pour *A. niger* et blanche pour *A. candidus*. Le revers de la colonie est incolore ou jaune, mais il peut brunir ou rougir avec l'âge (Chermette et Bussieras, 1993).

4.1.2. Caractères microscopiques

Les *Aspergillus* sont caractérisés par un appareil végétatif (thalle) formé de filaments mycéliens hyalins, de diamètre fin et régulier, septés et ramifiés. Sur les filaments végétatifs prennent naissance des filaments dressés, non cloisonnés (conidiophores) qui se terminent par une vésicule de forme variable sur laquelle sont disposées les cellules conidiogènes ou phialides. Ces dernières peuvent être insérées directement sur la vésicule (têtes unisériées) ou portées par des petites structures insérées sur la vésicule (têtes bisériées) nommées métules ou stérigmates (Badillet et al., 1987 ; Raper et Fennell, 1965). Les spores toujours unicellulaires, sont de forme variable, globuleuses, subglobuleuses elliptiques, lisses ou ornementées (Figure 2).

L'ensemble vésicule (métules) + phialides + conidies constitue la tête aspergillaire qui caractérise le genre *Aspergillus* (Figure 2) (Bedossa, 2002).

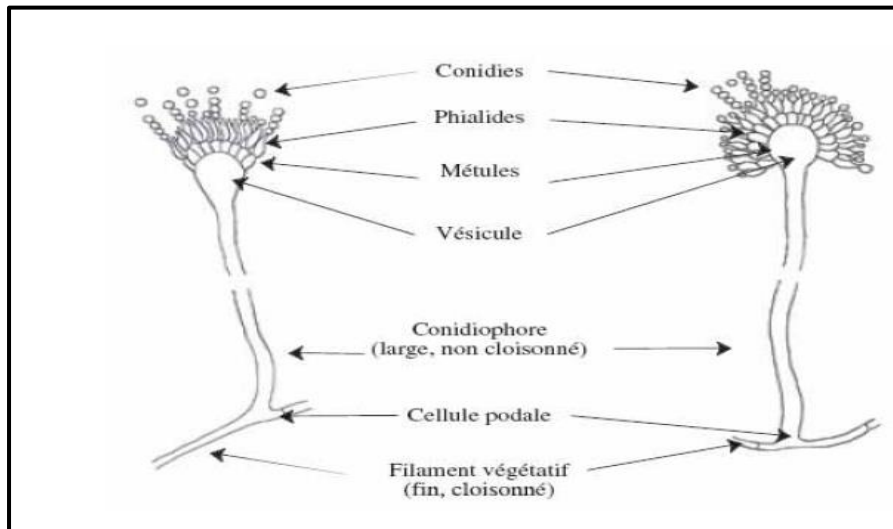


Figure 2. Principaux caractères morphologiques des *Aspergillus* (Bedossa, 2002).

4.1.3. Pouvoir pathogène

Certaines espèces du genre *Aspergillus* sont des pathogènes opportunistes; leur développement nécessite des conditions locales favorables (cavernes tuberculeuses, cancer bronchopulmonaire, broncho-pneumopathies chroniques obstructives, emphysèmes, mucoviscidose...) ou générales (corticothérapies prolongées, hémopathies malignes, chimiothérapies aplaisantes, SIDA...) (tabuc, 2007).

4.2. Le genre *Fusarium*

Le genre *Fusarium* inclue des champignons imparfaits appartenant à la classe des Deutéromycètes. Les formes parfaites ou téléomorphes de quelques espèces de *Fusarium* sont connues et appartiennent à la classe des Ascomycètes (ordre des *Hyphocreales*, famille des *Nectriaceae*, genres *Gibberella*, *Calonectria* et *Nectria*). Ce genre comprend 40 espèces largement répandues (Nelson et al., 1983).

Sur le plan économique le genre *Fusarium* est très important parce qu'il regroupe beaucoup d'espèces phytopathogènes, susceptibles d'induire des maladies (fusarioses) chez de nombreuses plantes. De plus, il regroupe aussi des espèces saprophytes capables de se développer en tant que pathogènes secondaires sur des tissus végétaux sénescents.

Les espèces du genre *Fusarium* peuvent ainsi attaquer les céréales (maïs, blé, orge, avoine), des légumes, les plantes ornementales et beaucoup d'arbres fruitiers. La majorité des espèces de *Fusarium* sont susceptibles de produire des mycotoxines et sont ainsi impliquées dans des intoxications chez les animaux d'élevage (Tabuc, 2007).

4.2.1. Caractères cultureux

Les *Fusarium* poussent sur milieu Sabouraud, mais se développent mieux sur gélose au malt ou sur milieu *PDA* (*potato-dextrose-agar*). Sur les milieux de culture, les *Fusarium* forment des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleur variable (blanche, crème, jaune, rose, rouge, violette ou lilas) selon les espèces. Le revers peuvent être crème, rouge à pourpre, lilas ou violet. Les pigments diffusent souvent dans la gélose (Chermette et Bussieras, 1993).

4.2.2. Caractères microscopiques

Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence des macroconidies fusiformes et cloisonnées.

Les conidiophores, parfois très ramifiés, forment sur le thalle des coussinets (sporodochies) et portent des masses de spores.

Les phialides présentent le plus souvent un site de bourgeonnement unique (monophialide) situé à l'extrémité d'un col allongé (*F. solani*) ou court et trapu (*F. oxysporum*). Chez d'autres espèces comme *F. proliferatum*, les phialides présentent plusieurs sites de bourgeonnement (polyphialides), et produisent deux types de conidies :

- microconidies : uni- ou bicellulaires, piriformes, fusiformes, cylindriques ou ovoïdes, isolées, solitaires ou groupées, disposées en verticille ou plus rarement en chaînettes (*F. verticilloides*).
- macroconidies : conidies pluricellulaires à cloisons seulement transversales, souvent groupées en paquets (Lahouar, 2016).

Les chlamydospores, sont parfois présentes, en position terminale ou intercalaire (Figure 3) (Heit, 2015).

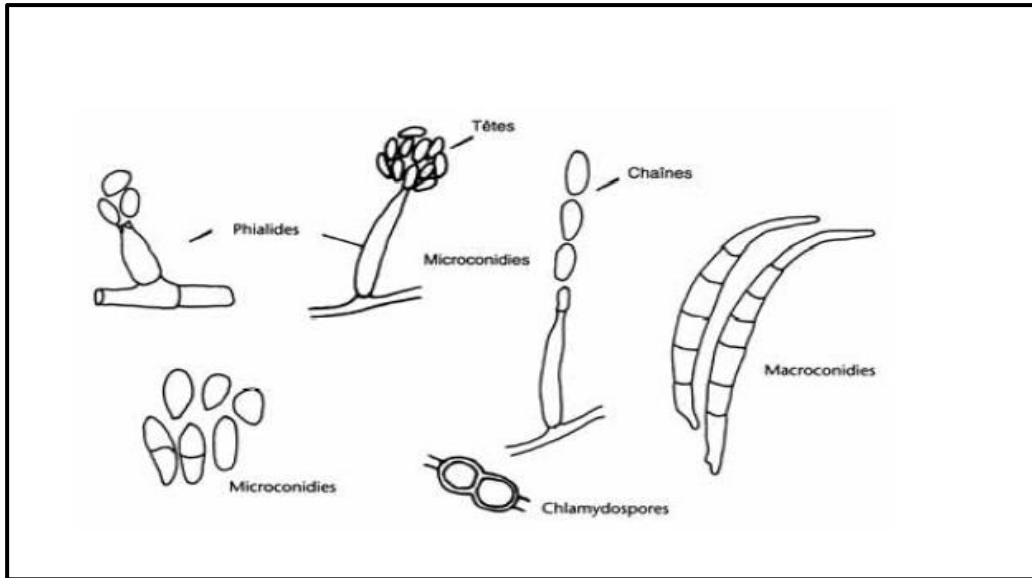


Figure 3. Aspect microscopique des conidies des *Fusarium* (Chabasse, 2002).

4.2.3. Pouvoir pathogène

Les *Fusarium* sont principalement des phytopathogènes. Ces champignons contaminent les céréales, les légumes, les arbres fruitiers provoquant des maladies nommées fusarioses. Cette maladie des céréales est présente partout dans le monde. Elle engendre des pertes économiques très importantes (Tabuc, 2007 ; Heit, 2015).

Le *Fusarium* Head Blight (scab) ou fusariose de l'épi (Figure 4) peut causer d'importantes pertes au niveau des récoltes et/ou une diminution de leur qualité et a déjà entraîné des millions de dollars de pertes. Cette fusariose est généralement provoquée par *F. graminearum* et *F. culmorum*. Cependant, sur l'orge, elle peut aussi être causée par *F. poae* et *F. avenaceum*.

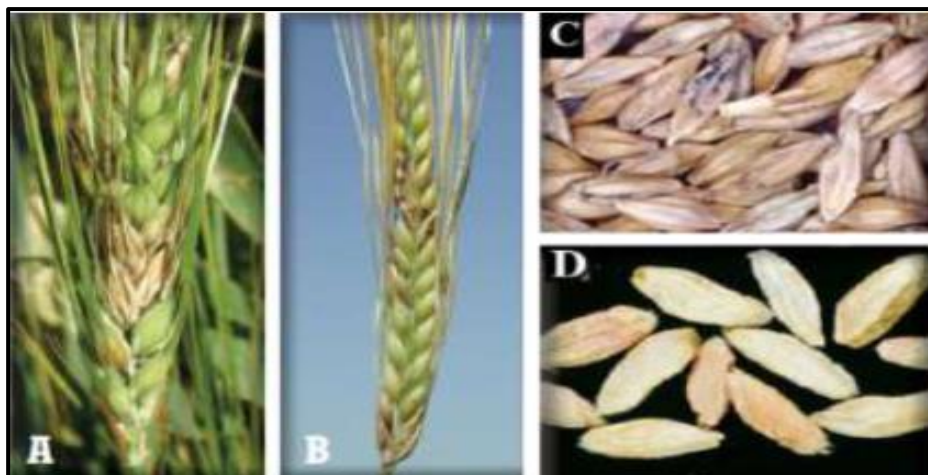


Figure 4. Symptômes de la fusariose sur céréales : épis d'orge avec des grains fusariés (A et B), grains d'orge fusariés (C) et grains de blé ridés avec une décoloration rosâtre (D) (Heit 2015).

Le pouvoir pathogène chez l'homme et les animaux est varié. Certaines espèces sont à l'origine des kératites. D'autres espèces (*F. solani*, *F. moniliforme*) sont impliquées dans des infections systémiques (Tabuc, 2007).

4.3. Le genre *penicillium*

Le genre *Penicillium* bien connu et l'un des champignons les plus courants présents dans une gamme variée d'habitats, du sol à la végétation, passant par l'air, les environnements intérieurs et divers produits alimentaires. Il a une distribution mondiale et un grand impact économique sur l'homme. Sa fonction principale dans la nature est la décomposition des matières organiques où les espèces provoquent des pourritures dévastatrices pathogènes post-récolte sur les cultures vivrières, ainsi que la production d'une gamme variée de mycotoxines. Certaines espèces ont également des impacts positifs, l'industrie alimentaire exploite certaines espèces pour la production de fromages de spécialité, tels que Camembert ou Roquefort et des saucisses fermentées. De même, leur pouvoir dégradant a entraîné la sélection d'espèces pour la production de nouvelles enzymes. Son plus grand impact et sa renommée est la production de pénicilline, qui a révolutionné les approches médicales du traitement des maladies bactériennes (Visagie et al., 2014).

4.3.1. Caractères culturaux

Les *Penicillium* se développent rapidement et facilement sur les milieux de culture utilisés en routine (géloses au malt, Sabouraud). Après 2 jours d'incubation, on observe de petites colonies plates, formées de courts filaments aériens, habituellement blancs. Après 3 à 4 jours d'incubation, la sporulation confère aux colonies leur teinte, le plus souvent dans les tons vert, vert bleu, vert-gris, vert-jaune, gris-bleu mais aussi, pour certaines espèces, jaune, orange, chamois, rose, ou rouge. Cette couleur permet une première orientation dans l'identification des espèces : vert-gris pour *P. citrinum*, *P. cyclopium*, *P. italicum*, vert-jaune pour *P. chrysogenum*, vert sombre pour *P. roquefortii*, *P. fellutatum*, jaune pâle, chamois pour *P. nalgiovense*, jaune vif à rouge pour *P. purpurogenum*, mélange d'orange et verdâtre pour *P. islandicum*, et blanche pour *P. camembertii*. Le revers de colonies peut être incolore, jaune, rouge, brun ou noir et parfois le pigment diffuse dans le milieu de culture (Chermette et Bussieras, 1993). Les *Penicillium* peuvent former des colonies floconneuses (*P. camembertii*, *P. nalgiovense*), funiculeuses (*P. funiculosum*), granuleuses (*P. expansum*, *P. griseofulvum*), veloutées (*P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. roquefortii*...) (Tabuc, 2007).

4.3.2. Caractères microscopiques

Les hyphes septés : portent des conidiophores simples ou ramifiés, parfois regroupés en buisson ou corémie.

Les phialides sont disposées en verticilles à l'extrémité des conidiophores. Elles sont insérées directement (*Penicillium* monoverticillés) ou par l'intermédiaire d'une rangée de métules (*Penicillium* biverticillés) ou de deux rangées successives de métules (*Penicillium* triverticillés) sur les conidiophores. Les phialides sont serrées les unes contre les autres, l'ensemble donne une image de pinceau (ou pénicille).

Les phialides donnent naissance à des spores unicellulaires disposés en chaînes (chaînes basipètes, non ramifiées). Les conidies sont rondes à ovoïdes, hyalines ou pigmentées, lisses ou échinulées, mesurant de 2 à 4 µm de diamètre (Figure 5) (Chabasse et al., 2002).

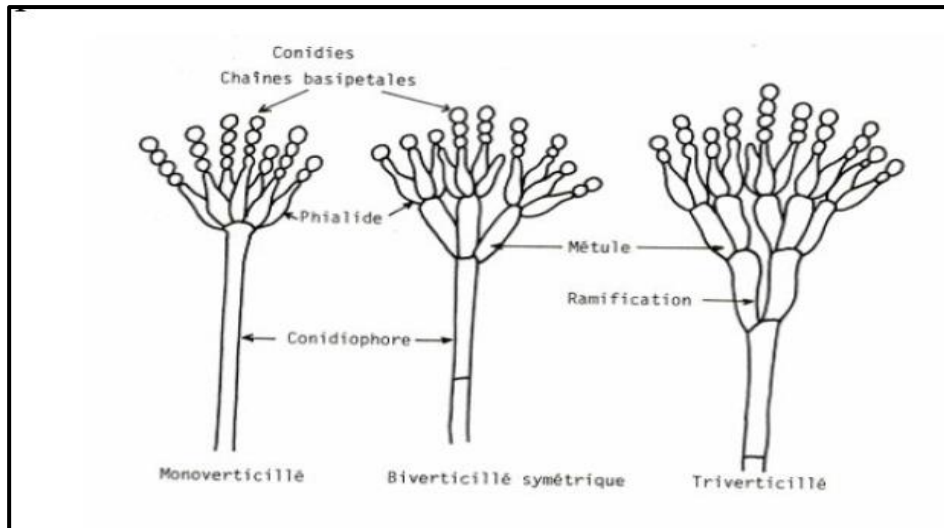


Figure 5. Principaux caractères morphologiques des *Penicillium* (Lahouar, 2016).

4.3.3. Pouvoir pathogène

Les espèces du genre *Penicillium* sont des contaminants fréquemment isolés au laboratoire. Par contre ils sont très rarement incriminés en pathologie animale et humaine, en raison de la température de croissance de la plupart des espèces qui est inférieure à 30° C. Les infections sont habituellement provoquées par l'inhalation des spores et les premiers signes sont souvent pulmonaires. Des espèces de *Penicillium* sont responsables de kératomycose (inflammation de la cornée), d'otomycose (infection de l'oreille externe), d'onychomycose (infection des ongles) et parfois d'infections profondes. Une seule espèce, *Penicillium marneffei*, rencontrée exclusivement en Asie du Sud-Est (Chine, Thaïlande, Laos, Birmanie) a pu être isolée chez des personnes immunodéprimées, notamment les patients infectés par le VIH; cette espèce est alors responsable d'infections systémiques touchant la peau et les organes profonds (foie, rate, ganglions, os,...) (Tabuc, 2007).

Chapitre II: Les mycotoxines

1. Généralités

Le terme mycotoxine provient du grec « Mycos » qui signifie champignons, et du latin « Toxicum » signifiant poison (Jagoda et Wioletta, 2021). Les mycotoxines sont des produits naturels de faible poids moléculaire, produits comme métabolites secondaires par des champignons filamenteux (Bennet et Klich, 2003). Elles sont considérées parmi les contaminants alimentaires les plus significatifs en terme d'impact sur la santé publique et l'économie de nombreux pays, en raison de leurs assemblage toxigénique et chimique hétérogènes (Bennet et Klich, 2003).

Plusieurs milliers de moisissures ou champignons toxinogènes ont été identifiées. Les principales espèces toxinogènes appartiennent à trois principaux genres : *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (Jouany et al., 2006). Les céréales, les fruits secs, les grains oléagineuses, les raisins les grains de café et les noix sont des produits agricoles bruts très sensible à l'infestation par les mycètes avant, pendant ou après la récolte, et donc souvent contaminés par les mycotoxines.

L'exposition humaine aux mycotoxines est en outre déterminée par la surveillance environnementale. Dans le cadre de la surveillance environnementale les mycotoxines sont mesurées dans les aliments, l'air ou d'autres échantillons.

En général l'exposition aux mycotoxines est plus susceptible de se produire dans les régions du monde où des mauvaises méthodes de manipulation et de stockage des aliments sont courantes (Bennet et Klich ,2003).

2. Historique

A la fin des années 1800 et au début des années 1900, il y a avait une reconnaissance considérable de la capacité des champignons à effectuer des fermentations et un certain nombre de chercheurs ont reconnus la myriade de « métabolites secondaires » produits par les champignons dans les fermentations réalisées sur des milieux solides et liquides. Etant donné que quelques –uns des produits de ces fermentations étaient consommés par l'homme, un certain intérêt pour la toxicité de ces produits a été développé (Richard, 2007).

Au cours des années 1940 et 1950 des épisodes de maladies mortelles chez l'homme en Russie se sont produits au cours des premières années de la seconde guerre mondiale. Cette situation était bien documenté et désignée sous le nom « Aleucie Toxique Alimentaire »

(ATA), elle a été reconnue comme une manifestation toxique de la contamination par les moisissures des grains récoltés (Richard, 2003).

Parallèlement des études sur le stockage des céréales, qui s'intéressaient à la détérioration des céréales par les champignons, a permis une meilleure compréhension du potentiel des champignons à être à la fois nocifs pour les céréales entreposées et à être des agents de problème toxique chez les bétails et les consommateurs humains.

Le terme mycotoxine a été employé en 1962 à la suite d'une crise vétérinaire inhabituelle près de Londres, en Angleterre au cours de laquelle environ 100 .000 dindons sont mort. Cette mystérieuse maladie X de la dinde a été liée à une farine d'arachide contaminée par une moisissure appelée *Aspergillus flavus* (Bennett et Klich, 2003).

En 1961 des chercheurs anglais du « Tropical Products Institute » montraient qu'*Aspergillus flavus* produisait une substance toxique qu'ils baptisèrent aflatoxine (Adams et Moss, 2002). Cette substance a attiré l'attention des scientifiques vis à vis d'autres métabolites occultes de moisissures pouvant être mortels. La rubrique des mycotoxines a été depuis élargie pour inclure un certain nombre de toxines fongiques déjà connues (les alcaloïdes de l'ergot) certains composés initialement isolés comme antibiotiques et un certain nombre de nouveaux métabolites secondaires révélés dans des dépistages ciblés à la découverte des mycotoxines (Bennett et Klich, 2003).

3. Les principales mycotoxines

3.1. Les aflatoxines

Les principales aflatoxines (AF) sont les aflatoxines (B1, B2, G1, G2) (Figure 6) produites par des isolats sélectionnés d'*Aspergillus flavus* ou *A .parasiticus*.

Cependant l'aflatoxine M1 un métabolite hydroxylé est présent principalement dans les tissus et liquides animaux (lait et urine) (Richard, 2007).

Lorsque des céréales telle que le maïs poussent et que la température ambiante est élevée, en particulier en cas de sécheresse les céréales deviennent plus sensible à la formation d'aflatoxines.

Les aflatoxines sont principalement hépatotoxiques qui provoquent des lésions hépatiques chez les animaux, elles peuvent entraîner une diminution de la production des

cultures agricoles. Elles sont immunosuppressives, cancérigènes, tératogènes et mutagènes (Richard, 2007).

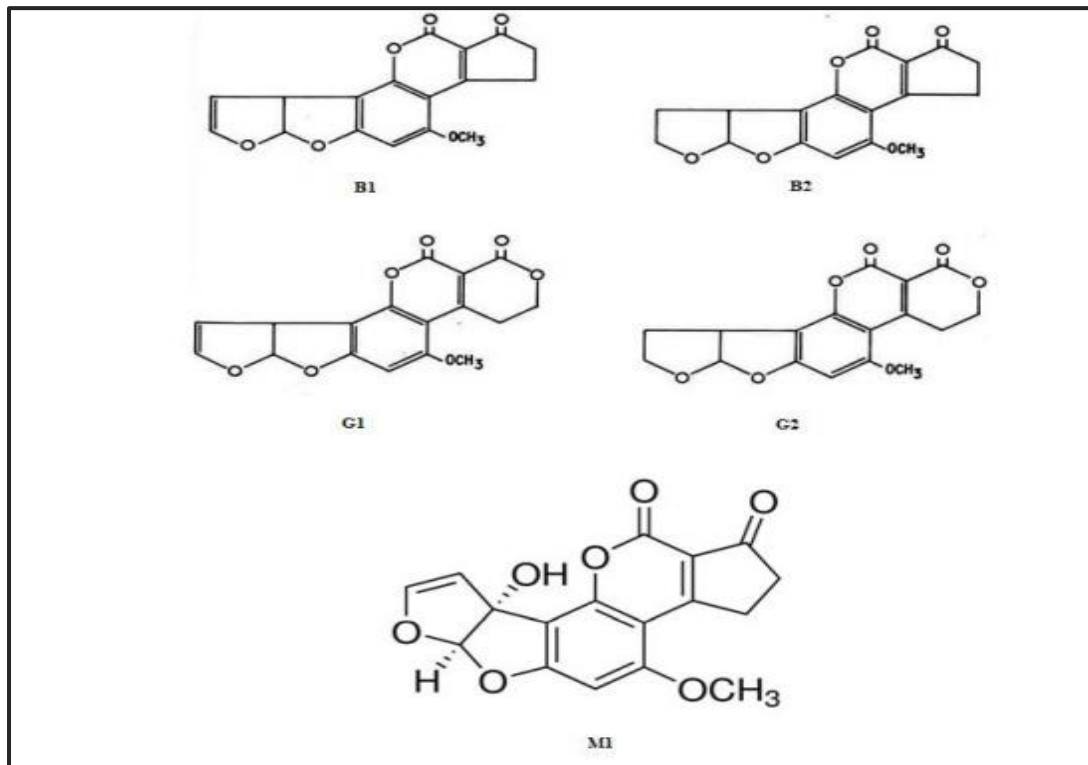


Figure 6. Structure chimique des principales aflatoxines (B1, B2, G1, G2, M1) (Lahouar, 2016).

3.2. L'ochratoxine A

L'ochratoxine A (OTA) est l'une des principales mycotoxines, c'est un composé naturellement fluorescent produit principalement par *Aspergillus ochraceuse* et *Penicillium verrucosum* (Figure 7). Une caractéristique importante de l'OTA est qu'elle est présente dans une grande variété de produits tels que les raisins secs, l'orge, les produits à base de soja (Richard, 2007). On sait peu de choses sur les conditions nécessaires à l'implication des champignons producteurs de cette mycotoxine dans les grains lors du développement au champ.

L'OTA a été considérée comme étant produite dans des conditions de stockage qui favorisent la croissance des moisissures et la production de toxine (Richard, 2007).

Elle est principalement une toxine rénale mais à des concentrations suffisamment élevées, elle peut également endommager le foie. La néphropathie endémique des Balkans

est l'une de ces maladies rénales souvent associées à des tumeurs humaines qui est considérée par certains comme étant causée par L'OTA (Richard, 2007).

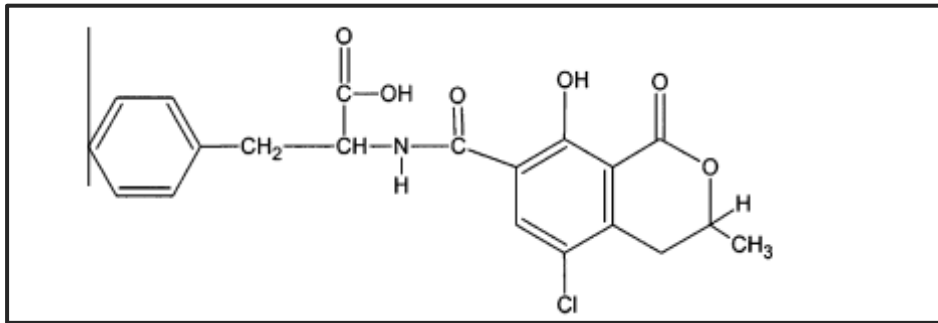


Figure 7. Structure chimique de l'ochratoxine A (OTA) (E. Zain, 2010).

3.3. Les trichothécènes

Les trichothécènes sont un groupe de mycotoxines produites principalement par des espèces appartenant aux genres *Fusarium*, *Myrothecium*, et *Trichoderma* (Bennet et Klich, 2003). Elles ont été classées en quatre groupes : types A–D selon leur structure chimique, les plus importants dans les céréales sont les types A et B. Les B-trichothécènes comprennent les mycotoxines déoxynivalénol (DON), ses dérivés acétylés, le 3-acétyldéoxynivalénol (3ADON) et le 15- acétyldéoxynivalénol (15ADON) et le nivalénol (NIV). Le DON est le trichothécène de type B le plus fréquent et peut être trouvé dans le monde entier (C.Piacentini, 2019).

3.3.1. Le déoxynivalénol

Déoxynivalénol également connu sous le nom de vomitoxine ou DON est produit principalement par *Fusarium graminearum* (Figure 8). Le DON est une mycotoxine non fluorescent (Richard, 2007).

Le maïs et les petites céréales telles que le blé, l'avoine et l'orge sont les principales cultures touchées, il peut également être présent dans le maïs.

Les organismes survivent sur les résidus laissés sur le terrain par la récolte de la saison précédente, fournissant une source d'inoculum pour la nouvelle récolte. Ils se portent bien dans des conditions fraîches et humides, la contamination de la culture se produisant lorsque les conidies de l'organisme sont soufflées par le vent (Richard, 2007).

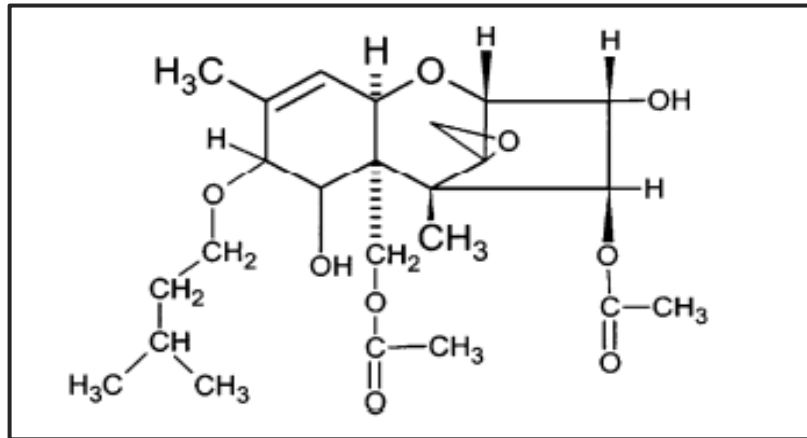


Figure 9. Structure chimique de la toxine T-2 (E. Zain, 2010).

3.4. La zéaralénone

La zéaralénone (ZEA) (Figure 10), est une mycotoxine produite par *Fusarium graminearum* utilisant le maïs le blé, l'orge, l'avoine et le sorgho comme substrats. Il s'agit d'un composé non stéroïdien qui présente une activité de type œstrogène chez certains animaux (E.Zain, 2010).

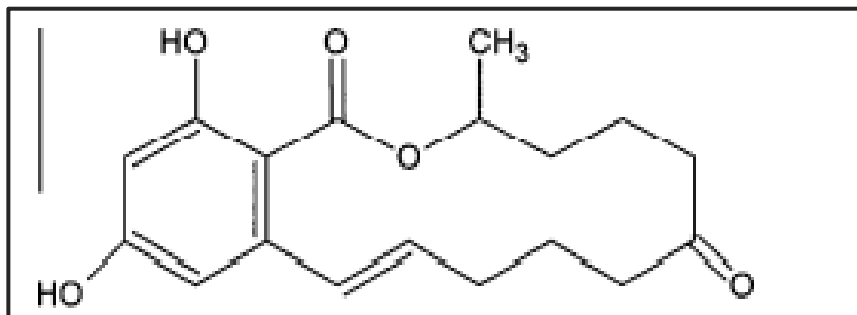


Figure 10. Structure chimique de la zéaralénone (ZEA) (E.Zain, 2010).

3.5. Les fumonisines

Les fumonisines sont synthétisées principalement par plusieurs espèces du genre *Fusarium* y compris *Fusarium verticillioides* et *F.proliferatum* (Chen et al, 1992) (Figure 11).

Les fumonisines sont un groupe de mycotoxines non fluorescentes FB1, FB2, FB3 étant les principales entités. Le maïs est la principale denrée affectée par ce groupe de toxines, bien que certaines occurrences ont été trouvées dans le sorgho et le riz.

Une maladie majeure des chevaux qui comprend un ramollissement de la substance blanche dans le cerveau (Leucoencéphalomalacie) est causée par les fumonisines. D'autres maladies telles que les maladies du foie y compris les tumeurs du foie et des reins, ont été notées dans des études utilisant des rongeurs. Les FB sont suspectées être à l'origine de tumeurs de l'œsophage de certaines populations humaines (Richard, 2007).

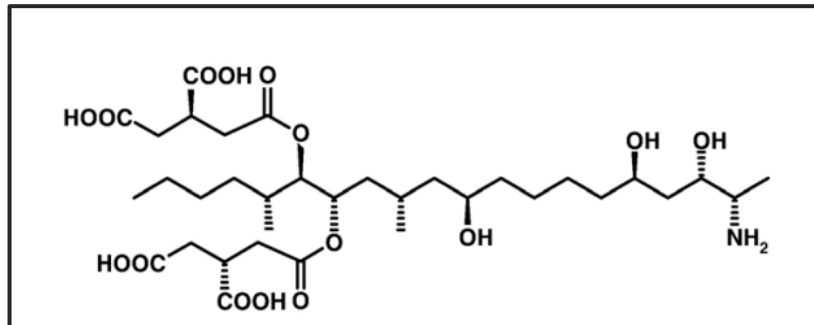


Figure 11. Structure chimique de fumonisine (FB) (Richard, 2007).

3.6. La citrinine

La citrinine (CIT) est un métabolite toxique secondaire isolé de *Penicillium citrinum* (Figure 12). Il se caractérise comme un antibiotique qui agit contre les bactéries, les bactériophages, les sarcomes, les protozoaires et les cellules animales. C'est une toxine rénale qui affecte les volailles, les animaux domestiques et les humains. Le CIT est impliqué dans l'étiologie de la néphropathie endémique et est également génotoxique, embryocide et fœtotoxique bien que le mécanisme moléculaire de toxicité du CIT ne soit pas complètement connu. Il montre une similitude structurelle avec l'OTA.

Le CIT et l'OTA fonctionnent tous deux en synergie pour atténuer l'activité de synthèse d'ARN dans le tissu rénal et provoque des troubles rénaux à la suite du développement d'adduits à l'ADN avec une augmentation de la formation d'adduits C-C8dG-OTA. La possibilité de carcinogénèse chez l'homme est significativement augmentée par le CIT et l'OTA (Navale et *al.*, 2021).

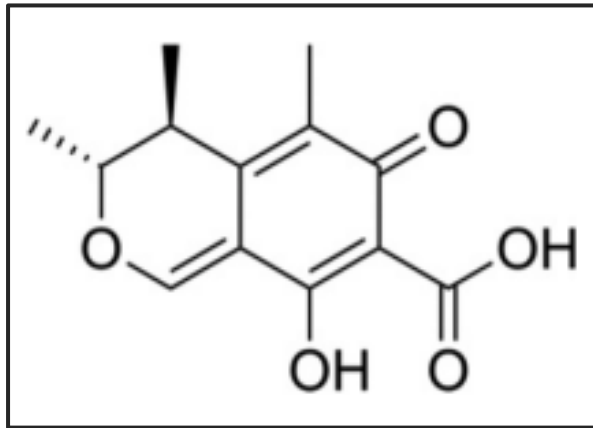


Figure 12. Structure chimique de citrinine (CIT) (Navale et *al.*, 2021).

3.7. La patuline

La patuline (PAT) est un métabolite toxique produit par environ 30 genres appartenant à *Penicillium*, *Aspergillus*, *Paecilomyces* et *Byssochlamys* (Figure 13). Il a été évalué en médecine humaine sous le prénom médicament Tercinin comme antibiotique probable mais avait été abandonné en raison de sa toxicité pour l'homme et l'animal. En raison de sa toxicité suspectée, le PAT a été inclus dans la liste des mycotoxines et son niveau dans les aliments est limité dans plusieurs pays. Il provoque des ulcères, des inflammations et des hémorragies intestinales (Navale et *al.*, 2021).

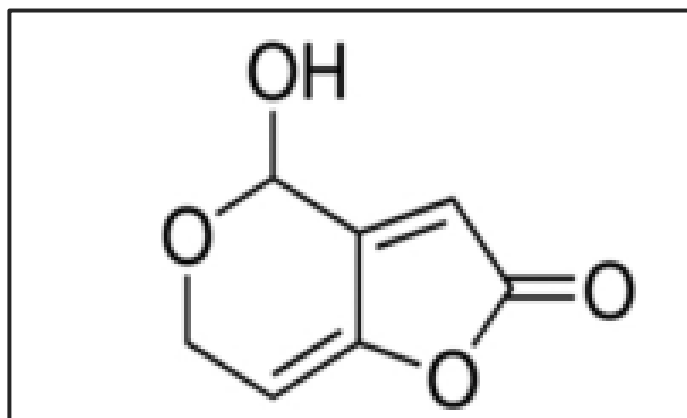


Figure 13. Structure chimique de la patuline (PAT) (Navale et *al.*, 2021).

4. La contamination des céréales par les mycotoxines

Les céréales sont des vecteurs importants de mycotoxines puisqu'elles sont universellement consommées par l'homme et les animaux. L'enquête réalisée par Pitt et à l'échelle mondiale (1998) montre que de 25 à 40% des céréales sont contaminées par des mycotoxines (Yiannikouris et Jouany, 2002).

Parmi les toxines les plus dangereuses, les aflatoxines issues d'*Aspergillus flavus* et *A. parasiticus*, qui sont des moisissures de stockage, sont fréquemment présentes dans les céréales, les graines d'arachide et de coton, ainsi que dans les oléagineux produits dans les pays chauds et humides. La Commission européenne a défini un seuil maximal de concentration de 0,005 ppm d'AFB1 dans les céréales. L'OTA peut être présente dans toutes les céréales. Elle est principalement rencontrée dans le maïs, l'orge, l'avoine, le seigle, le blé, et les oléagineux, lorsque les produits ont été mal séchés avant leur stockage. Les trichothécènes tels que le déoxynivalénol (DON), la toxine T-2 produits par *Fusarium* sp peuvent être présents dans la plupart des céréales durant la récolte et le pré-stockage. L'acide fusarique accompagne souvent les trichothécènes et amplifie leur toxicité. La ZEA est présente dans le maïs principalement, et plus faiblement dans le sorgho, l'orge, le blé et l'avoine récoltés tardivement, et sur des grains dont l'enveloppe a été abîmée. Les fumonisines (FB1, FB2, FB3) sont associées principalement au maïs, alors qu'elles ne sont pas présentes dans les grains de blé. La patuline peut se former au cours du maltage de l'orge. Elle a été impliquée dans la mort de 100 vaches ayant reçu du malt séché (Tableau 1) (Yiannikouris et Jouany, 2002).

L'Algérie est un pays d'Afrique du nord dont le climat est caractérisé par des températures élevées et une humidité relative élevée dans certaines régions qui semble stimuler la croissance des moisissures toxino-gènes. Les résultats analytiques, suite à une étude réalisée par Mahdjoubi et al (2020), des céréales algériennes (grains d'orge, maïs, riz et blé) ont montré que 65% des échantillons étaient contaminés par au moins une toxine. La toxine T-2 et le DON étaient les mycotoxines les plus fréquemment trouvées, les fumonisines sont trouvées dans le maïs, la ZEA et la T-2 dans le blé.

Tableau 1. Occurrence des mycotoxines dans les céréales à travers le monde
(Lahouar, 2016).

Aliments	Mycotoxines	Incidence (%)
Maïs	DON	88
	ZEN	90
	OTA	1,50
Céréales du petit déjeuner	DON	72
	ZEN	66
Blé dur	FB1, FB2, FB3	96
Céréales et dérivés	AF	10
	OTA	1,50
Blé	CIT	50
Sorgho	AFB1	12,8

5. Les conditions de contaminations des aliments par les moisissures

Comme tout microorganisme, la croissance fongique dépend de plusieurs facteurs qui sont soit intrinsèques (liés à la souche) soit extrinsèques (propriétés physiques, chimiques ou biologiques de l'écosystème) (Lahouar, 2016). Du champ jusqu'à l'assiette, de nombreuses espèces de moisissures sont susceptibles de se développer et de sécréter des toxines si les conditions environnementales sont favorable. L'infestation peut avoir lieu avant ou pendant le stockage (Gauthier, 2016).

5.1. Facteurs physiques

5.1.1. L'activité en eau (A_w)

L' A_w d'un aliment dépend de sa composition chimique, c'est-à-dire de la quantité d'eau retenue par les sels, sucres et protéines, ainsi que de ses caractéristiques physiques (porosité, polarité). Ce paramètre peut varier de 0 (pour les substrats dans lesquels toute l'eau est retenue) à 1 (pour l'eau pure). Les moisissures sont, de façon schématique, plus xérotolérantes que les autres microorganismes (bactéries, levures). La plupart des moisissures se développent bien pour des activités en eau voisines de 0,85. Par conséquent, beaucoup de produits dont l'activité hydrique ne permet pas la croissance bactérienne peuvent être colonisés par les

moisissures. Les moisissures appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont généralement capables de se développer à des Aw voisines de 0,7 à 25°C ; elles peuvent donc se développer dans les aliments pauvres en eau comme les céréales au cours du stockage, les fruits secs et les produits dont l'activité hydrique a été réduite (produits de salaison sèche, confitures,...) (Castegnaro, Pfohl-Leszkowicz, 2002). Par comparaison, les *Fusarium* ne peuvent pas se développer que pour des Aw supérieurs à 0,9. Il s'agit donc d'espèces se développant au champ, sur les plantes vivantes (Castegnaro, Pfohl-Leszkowicz, 2002).

5.1.2. La température

La température conditionne le développement de la flore fongique et surtout sa vitesse de croissance. La plupart des champignons sont mésophiles avec des optima de croissance variant de 25 à 35°C. La croissance des *Fusarium* est plus favorable dans les climats tempérés à des températures allant de 26 à 28°C, tandis que les *Aspergillus* prolifèrent mieux sous des températures chaudes comme *A.fumigatus* qui se développe à 37-40°C et parfois jusqu'à 57°C (Tabuc, 2007). Pour *Aspergillus ochraceus* par exemple, la température optimale de croissance se situe entre 25 et 30°C (Ramos et al., 1998). Certaines espèces sont psychrophiles ou psychrotolérantes et sont capables de se développer à des températures relativement basses comme les champignons du genre *Penicillium* dont l'intervalle de température varie de 4°C à 31°C avec un optimum à 12°C.

5.1.3. L'oxygénation

Les moisissures sont, pour la plupart, des microorganismes strictement aérobies ; ils ont besoin d'oxygène pour une croissance normale. Toutefois, leur développement est peu affecté par des teneurs de 10 fois plus faible (2,1%) que celle de l'atmosphère. En conséquence, certaines espèces de moisissures peuvent se développer sur les denrées alimentaires dans une atmosphère pauvre en O₂. C'est le cas d'*Aspergillus flavus* qui tolère des pressions très faibles en O₂. Par contre, pour d'autres moisissures, comme *Fusarium proliferatum*, dépendants de l'oxygène, la biomasse fongique se trouve considérablement réduite en absence d'O₂ (Keller et al., 1997). Certaines espèces peuvent se développer en anaérobiose : c'est le cas de *Byssochlamys* qui contaminent les jus de fruits conservés par pasteurisation (Pfohl-Leszkowicz, 2001). La concentration en CO₂ influence aussi la croissance fongique et intervient au niveau de l'intensité respiratoire. L'élévation de la pression de CO₂ dans le milieu inhibe la croissance fongique. Ainsi, le développement d'*Aspergillus ochraceus* est complètement inhibé par une teneur de 80% de CO₂ (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

5.2. Facteur temps

L'étude de l'évolution des différents paramètres (la composition gazeuse de l'air, la température, le pH, l'Aw) sur la prolifération de la flore fongique en fonction du temps détermine la durée du stockage à ne pas dépasser, au-delà de laquelle le produit alimentaire s'altère (Lahouar, 2016).

5.3. Facteurs chimiques

5.3.1. Le pH

Le pH est une mesure de l'activité des ions hydrogène dans une solution. En général, les différents groupes microbiens ont un pH de préférence caractéristique. Chaque espèce se développe dans une gamme définie de pH et possède un pH optimum de croissance. Son action sur le développement microbien se situe surtout au niveau de la cinétique des réactions enzymatiques. La plupart des micromycètes préfèrent un environnement légèrement acide, leur croissance étant normalement optimale entre 5 et 6. Leur tolérance est importante vis-à-vis des pH acides (Pitt et Hocking, 1997). Elles se multiplient souvent dans une gamme étendue de pH allant de 3 à 8, mais variable selon les espèces. Il y a cependant des limites à leur tolérance et les variations drastiques du pH peuvent les endommager (Lahouar, 2016).

5.3.2. La composition chimique du substrat

La nature du substrat joue un rôle primordial dans la croissance fongique. Le développement d'un champignon sur un substrat donné est lié à ses propriétés inhérentes telles que la capacité à produire certains métabolites (enzymes, pigments, synthèse de toxines) et la dégradation enzymatique (Boudih, 2011).

Outre les propriétés inhérentes au champignon à dégrader un substrat, la composition même de celui-ci influe sur son développement. En effet, la présence d'atomes nécessaires au champignon, comme le carbone ou l'azote favorise sa croissance. Au contraire, une matrice très complexe avec la présence d'inhibiteurs de croissance comme les acides organiques (acide lactique, acide acétique), ne favorise pas la croissance des champignons (Boudih, 2011).

Dans le cas des céréales par exemple, c'est presque toujours au niveau du germe du grain que se manifeste l'attaque par les moisissures (Lahouar, 2016).

5.4. Facteurs biologiques

5.4.1. L'intrication microbienne

La compétition pour les nutriments et l'espace est un phénomène rencontré fréquemment dans le monde vivant. La présence simultanée de plusieurs espèces de microorganismes dans le même milieu détermine les interactions entre les différentes espèces. La synthèse des mycotoxines et leur accumulation dans le milieu peut aussi avoir un effet inhibiteur sur le développement de certaines espèces microbiennes (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

5.4.2. La présence d'insectes

Les insectes représentent les principaux vecteurs des spores des moisissures. Ils contribuent à l'infestation des denrées par les moisissures aussi bien dans le champ que dans les locaux de stockage (Pfohl-Leszkowicz, 2001). En dégradant la paroi des grains et des graines, les insectes favorisent la contamination par les moisissures. Ces dernières envahissent les graines cassées ou fissurées qui constituent des foyers favorables pour le développement et la production des mycotoxines. Par exemple, la contamination d'arachides par *Aspergillus flavus* avant la récolte est souvent associée à l'attaque d'insectes (Pfohl-Leszkowicz, 2001). Les acariens sont aussi des vecteurs importants de spores, ils vivent sur les grains moisissus, récupèrent et transportent ensuite les spores sur la surface de leur corps et dans leur tube digestif (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002). De même, les chenilles et les coléoptères sont souvent associés avec la contamination du maïs par les aflatoxines (Hubert *et al.*, 2007). Pendant le stockage des céréales, les oiseaux et les rongeurs peuvent avoir le même rôle de vecteurs de spores fongiques (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

6. La mycotoxinogénèse

La mycotoxinogénèse correspond à l'ensemble des conditions nécessaires au processus de synthèse et de sécrétion des toxines fongiques.

Les moisissures sont présentes dans tous les climats et sur tous les supports dès l'instant que les conditions nutritionnelles et d'humidité, pour assurer leur croissance, sont réunies. Toutes les souches des espèces fongiques ne sont pas toxigènes, certaines ont été sélectionnées sur ce critère fondamental pour leur utilisation dans les procédés de préparation de certains aliments (fromage, boissons fermentés). Par ailleurs les moisissures toxigènes, ne produisent des mycotoxines que dans des conditions particulières (Jouany *et al.*, 2006).

Une seule espèce de moisissures peut produire différentes mycotoxines et plusieurs moisissures peuvent produire la même mycotoxine, par ailleurs une mycotoxine peut être présente alors que le champignon a disparu du milieu. La présence d'une espèce fongique ne peut donc pas être considérée comme un indicateur faible de contamination par les mycotoxines (Tableau 2) (Jouany et *al.*, 2006).

Les conditions permettant la toxinogénèse sont plus étroites que celles autorisant la croissance fongique. Les conditions optimales de la toxinogénèse dépendent d'une combinaison de facteurs conduisant à l'imprégnation mycotoxique d'une denrée alimentaire, nous pouvons distinguer les facteurs intrinsèques qui sont liés à la souche fongique elle-même et les facteurs extrinsèques qui sont constitués par l'ensemble des conditions écologiques (Gwaldys et Tap, 2004).

Tableau 2. Les principales moisissures productrices de mycotoxines (Jouany et al., 2006).

	Mycotoxines	Principales moisissures productrices
Mycotoxines réglementées ou en cours de réglementation	Aflatoxines B1, B2, G1, G2	<i>Apergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i>
	Ochratoxine A	<i>Penicillium verrucosum</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Aspergillus carbonarius</i>
	Patuline	<i>Penicillium expansu</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>Byssochlamys nivea</i>
	Trichothécènes	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. crookwellense</i> , <i>F. sporotrichiodes</i> , <i>F. pae</i> , <i>F. tricinctum</i> , <i>F. acuminatum</i>
	Zéaralnonnes	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. crookwellense</i>
	Alcaloïdes d'ergot (réglementés en poids de sclérotés)	<i>Claviceps purpurea</i> , <i>C. paspali</i> , <i>C.africana</i>
	Fumonisines B1, B2, B3	<i>Fusarium verticilloides</i> , <i>F.proliferatum</i>
Autres mycotoxines	Citrinine	<i>Aspergillus terreus</i> , <i>A. carneus</i> , <i>A. niveus</i> , <i>Penicillium verrucosum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. expansum</i>
	Toxines d' <i>Alternaria</i> (alternariol, alternariol méthyl éther...)	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Alternaria solani</i>
	Acide cyclopiazonique	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. tamarisii</i> , <i>Penicillium cyclopium</i> , <i>P. camembertii</i>
	Stérigmatocystine	<i>Aspergillus nidulans</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. flavus</i>
	Sporidesmines	<i>Pithomyces chartarum</i>
	Stachybotryotoxines	<i>Strachybotrys chartarum</i>
	Toxines d'endophytes (ergovaline, lolitrème B)	<i>Neotyphodium coenophalium</i> , <i>N. lolii</i>
	Phomospsines	<i>Phomopsis leptostromiformis</i>
	Toxines trémogènes	<i>Penicillium roquefortii</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>P.puberrelum</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>A. fumigatus</i>

6.1. Facteurs intrinsèques

Parmi les espèces réputées toxigènes, toutes les souches ne le sont pas. A chaque souche est déterminé un potentiel qui est exprimé par le logarithme de la concentration maximale en toxine. Certaines espèces peuvent produire plusieurs mycotoxines comme *Aspergillus flavus* qui peut produire entre autres des aflatoxines, l'acide cyclopiazonique, l'aspertoxine. Le taux initial de l'infestation par une espèce toxigène est important car il reflète le risque d'imprégnation toxinique c'est à dire que plus le taux sera élevé plus le risque sera important (Gwaldys et Tap, 2004).

6.2. Facteurs extrinsèques

- Facteurs physico-chimiques

a. L'activité en eau (A_w)

L'activité hydrique nécessaire à la toxigénèse est supérieure à celle permettant la croissance fongique (Pfohl-Leszkowicz, 2001). Par exemple, *Penicillium verrucosum* peut se développer à partir d'une A_w de 0,80 ; par contre, la production d'OTA n'est possible que lorsque l' A_w est supérieure ou égale à 0,85 (Cairns-Fuller et al., 2005). La formation des aflatoxines par *Aspergillus flavus* nécessite une valeur d' A_w comprise entre 0,83 et 0,87 mais la croissance du microorganisme peut avoir lieu à des valeurs d' A_w plus basses (Troller, 1980). En étudiant, la production de l'AFB1 dans les arachides, Diener et Davis (1967) ont rapporté que la valeur optimale pour la production d'AFs est 0,95 A_w , alors qu'aucune quantité d'AFs n'a été détectée à 0,85 A_w . En 1969, Hunter a montré que la valeur minimale permettant la production des AFs est égale à 0,84 A_w . Les quantités maximales d'OTA, produites par *A. ochraceus* dans l'orge, ont été observées à 0,98 A_w (Ramos et al., 1998). La production de la fumonisine B1 par *F. moniliforme* et *F. proliferatum* dans le maïs est maximale à 0,97 A_w (Marin et al., 1999).

b. Le pH

Comme pour l' A_w , la gamme de pH permettant la toxigénèse est plus restreinte que celle permettant la croissance fongique. En 1997, Keller a caractérisé l'effet du pH sur la croissance de *Fusarium proliferatum* et, en parallèle, sur la production de fumonisine B1 (Keller, 1997). Il a montré que le pH a une influence considérable sur la production de FB1 (Tableau 3).

Tableau 3. Influence du pH sur la production de fumonisine B1 par *Fusarium proliferatum* (Keller, 1997).

pH	Fumonisine B1 (ppm)
2,2	9,4 ± 4,5
2,6	33,3 ± 10,2
3,0	261,6 ± 38,1
3,7	436,7 ± 118,0
4,2	432,3 ± 66,9
5,6	16,9 ± 9,2

c. L'oxygénation

Généralement la production des mycotoxines est plus sensible à la variation de la composition de l'air que la croissance fongique. Une concentration en oxygène inférieure à 1% et des concentrations élevées de CO₂ empêchent l'élaboration de mycotoxines (Cairns-Fuller et al., 2005).

d. La température

La température optimale pour l'élaboration de mycotoxines est généralement proche de la température optimale de croissance, mais, le plus souvent, légèrement inférieure. C'est notamment le cas pour l'élaboration des aflatoxines (*Aspergillus flavus*), de l'ochratoxine A (*A. ochraceus*), de la stérigmatocystine (*A. versicolor*), de la patuline (*Penicillium granulatum*), de l'acide pénicillique et de l'acide cyclopiazonique (*Penicillium granulatum*) (Pfohl-Leszkowicz, 2001). La température optimale pour la croissance de *Fusarium graminearum* est de 25°C, mais la synthèse de la zéaralénone peut avoir lieu à 15°C. La température peut aussi influencer la proportion de toxines produites par une souche susceptible de synthétiser plusieurs molécules. Par exemple, *Fusarium graminearum* peut produire préférentiellement de la zéaralénone à 25°C, alors que c'est le déoxynivalenol qui sera majoritairement produit à 28°C (Tableau 4) (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

Tableau 4. Influence de la température sur l'élaboration de zéaralénone et déoxynivalinol par *Fusarium graminearum* (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

Température °C	Concentration en ppm	
	Zéaralénone	Déoxynivalénol
19,5	57,5 ± 7	6,1 ± 0,6
25	120 ± 13	149 ± 14
28	98 ± 34	36515

e. La composition chimique du substrat

La composition qualitative et quantitative des substances nutritives du substrat (surtout les glucides, principale source de carbone chez les moisissures) peut influencer la production des mycotoxines. La présence de quelques substances dans les aliments, comme le saccharose et les acides aminés, stimule la croissance fongique ainsi que l'élaboration des mycotoxines. La contamination d'une denrée alimentaire par les moisissures dépend de la nature du substrat en particulier de la nature des glucides disponibles. La présence de certaines molécules dans le substrat peut aussi influencer la production des mycotoxines. Ainsi, l'acide phytique diminue la synthèse d'aflatoxine par *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus flavus* alors que la proline stimule cette production (Pfohl-Leszkowicz, 2001). *P. verrucosum* est le producteur principal d'OTA dans les céréales tandis que *P. nordicum* contamine souvent les produits riches en protéines, les produits fermentés à base de viandes et fromages (Lund et Frisvard, 2003).

De même la proline et l'acide glutamique stimulent la synthèse d'OTA par *A. alutaceus* et *P. verrucosum*. Il a été noté également une proportionnalité entre le taux de protéines contenues dans l'orge et l'apparition d'OTA (Pfohl-Leszkowicz, 1999). Concernant les fumonisines, l'amylopectine (Bluhm et Woloshuk, 2005), et le fructose (Jimenez et al., 2003), semblent être les meilleures sources de carbone stimulant la production de cette mycotoxine chez les *Fusarium*.

6.3. Facteurs biologiques

La présence simultanée de plusieurs espèces de microorganismes dans le même milieu entraîne une diminution de la production de mycotoxines par chacun des microorganismes producteurs. Ainsi, la quantité d'aflatoxine B1 produite est réduite quand une souche d'*Aspergillus flavus* est introduite dans une culture en même temps qu'une souche d'*Aspergillus parasiticus*, et ce, même si la souche d'*Aspergillus parasiticus* est une souche non toxigène (Pfohl-Leszkowicz, 2001). De même, la production d'aflatoxines par *Aspergillus flavus* est inhibée par la présence d'*Aspergillus niger* (Horn et Wicklow, 1983). En 1988, Mislivec a démontré expérimentalement que la culture simultanée d'*Aspergillus parasiticus* et d'*Aspergillus flavus* ne modifie pas la production d'aflatoxines par ce dernier, alors que la présence d'espèces de *Penicillium* diminue la production de cette mycotoxine (Mislivec et al., 1988). La présence de *Fusarium verticillioides* sur les épis protège le maïs d'une contamination ultérieure avec *Aspergillus flavus* et réduit la quantité d'aflatoxine produite (Zummo et Scott, 1992). La connaissance de la physiologie des moisissures et des facteurs influant l'accumulation des mycotoxines dans les aliments implique le développement des stratégies de prévention, de décontamination et la conception des modèles de prédiction de la croissance fongique et la production des mycotoxines (Lahouar, 2016).

*Chapitre III : Méthodes d'analyses et de
prévention*

1. Méthodes d'analyse des mycotoxines

La détection des mycotoxines est extrêmement importante en raison de leur toxicité et le contrôle de leur présence dans certains produits est obligatoire pour assurer la sécurité alimentaire et protéger la santé des consommateurs potentiels. Les méthodes analytiques pour la détection des métabolites secondaires des moisissures comprennent des méthodes physico-chimiques comme la « chromatographie sur couche mince » (CCM), « chromatographie liquide-spectrométrie de masse » LC-MS/MS, la « chromatographie liquide à haute performance » (CLHP) et la « chromatographie liquide en phase gazeuse » (CLPG), permettent la quantification des mycotoxines (Gauthier, 2016). Des méthodes plus récentes et plus rapides fondées sur des principes immuno-chimiques comme le test ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), spectrophotométrie de fluorescence, spectroscopie infrarouge frontière, fluorimètre, spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), radioimmunos dosage (RIA), sont couramment utilisés pour la détection et la quantification des mycotoxines dans les cultures vivrières agricoles (Jagoda et Wioletta; navale et *al.*, 2021).

Des techniques d'immunos dosage se sont développées au cours de la dernière décennie, y compris les bandelettes de test d'interaction immunochromatographique des toxines (Navale et *al.*, 2021).

1.1. Méthodes physico-chimiques

1.1.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une technique couramment utilisée pour séparer des composés, dans un but analytique ou de purification, permettant une détection qualitative et semi-quantitative des mycotoxines. Elle a l'avantage d'être rapide et peut traiter plusieurs échantillons en parallèle. Elle est peu coûteuse et fournit des résultats plus fluctuants que les techniques chromatographiques liquides et gazeuses (Gauthier, 2016 ; Huybrechts et *al.*, 2013).

Elle comprend une phase stationnaire, constituée d'une couche mince de matériel absorbant (gel de silice), qui est plongée dans une phase mobile liquide (éluant), composée d'un solvant qui va obliger les molécules à se séparer le long de la phase stationnaire. Cette méthode est fondée sur les différences d'affinité des composés vis-à-vis des deux phases (Gauthier, 2016) (Figure 14).

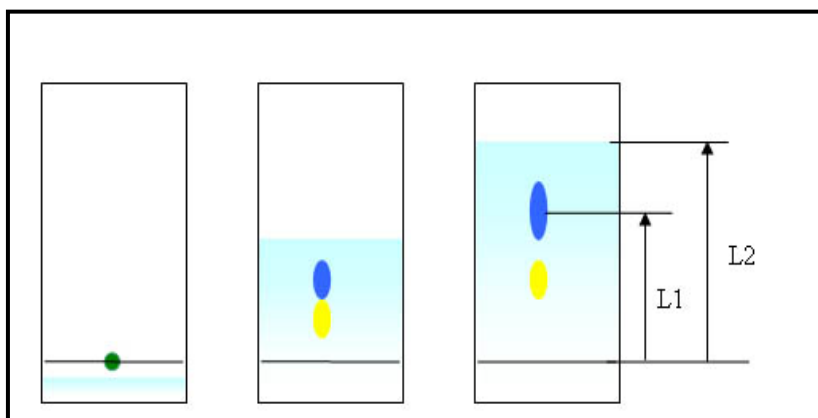


Figure 14. Exemple d'éluion en chromatographie sur couche mince (Lachimie.fr, 2022)

Le rapport frontal $RF = L1/L2$ étant le rapport entre la distance parcourue par le soluté divisé par la distance parcourue par le front du solvant (Annexe 1).

1.1.2. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

L'analyse par chromatographie liquide permet une analyse quantitative. Cette technique présente un intérêt important pour la quantification des mycotoxines et elle est considérée aujourd'hui comme une méthode de choix dans ce cadre. Différentes normes définissent l'HPLC comme méthode de dosage de référence pour certaines mycotoxines (Heit, 2015).

Différents types de séparation existent en fonction de la phase stationnaire utilisée : adsorption, partage (en phase normale à polarité de phase inversée avec appariement d'ions), échange d'ions et exclusion (Heit, 2015).

L'appareillage de la CHLP est divisé en cinq parties principales

- Un réservoir de solvant qui entrera dans la colonne de chromatographie comme phase mobile.

- Un système de pompage volumétrique haute pression dont le débit est précis et constant pour permettre la reproductibilité du temps de rétention t_R . Ce débit est généralement compris entre 0,2 et 2 ml/min., il dépend de la géométrie interne et externe de la colonne, du solvant utilisé, de la température et de la résolution recherchée. Le débit est également lié à la pression.

- Un système d'injection pour l'échantillon.

- Des colonnes : colonnes analytiques et pré-colonnes. Les pré-colonnes sont utilisées pour protéger la colonne analytique ou réaliser une opération de pré-concentration. La phase stationnaire remplit la colonne analytique.

- Des détecteurs ayant pour objectif la visualisation de la séparation. Dans le cas de détecteurs performants, ils montrent la sélectivité et permettent l'identification des solutés (Figure 15) (Caude et Jardy, 1995).

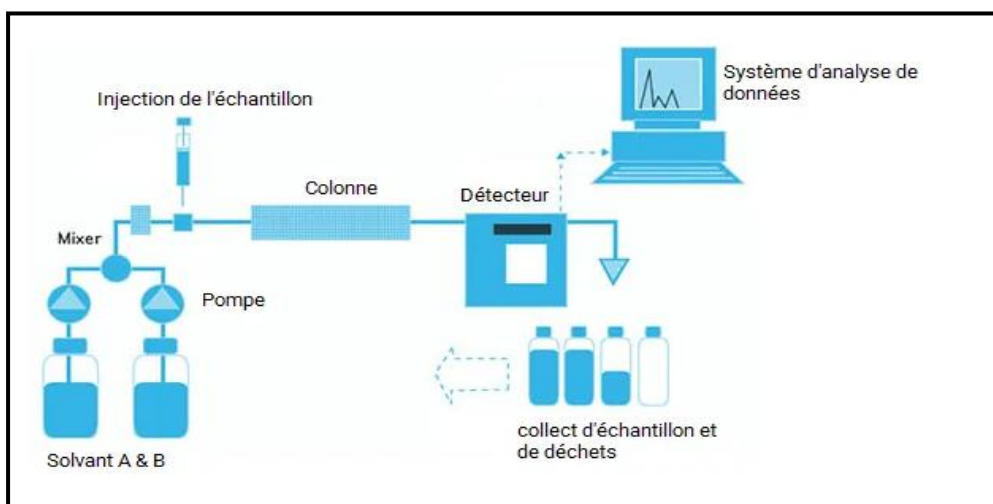


Figure 15. Conception générale d'un appareil d'HPLC (Bensakhria, 2016).

Il existe deux types d'élution des solutés : isocratique, lorsque composition de la phase mobile n'est pas modifiée au cours de l'analyse, ou par gradient. Dans le cas de la séparation et de la purification de mycotoxines, une chromatographie de partage est mise en place

Des colonnes normales ou à polarité de phases inversée sont utilisées, selon la polarité des mycotoxines.

- Principe

- Cas d'une colonne en phase normale

La phase stationnaire est polaire (silices greffées de fonctions amine, nitrile, diol, phényle...). Cependant, ce matériau se dégrade dans le temps, ce qui peut impacter la reproductibilité des résultats. La phase mobile est apolaire avec des solvants apolaires tels

que l'hexane, l'heptane, le cyclohexane ou l'isooctane. Un solvant peu polaire ou polaire, comme le chloroforme, le dichlorométhane, l'éthanol ou l'acétonitrile, est ajouté pour ajuster la force éluante de la phase mobile. Les solutés sont élués dans l'ordre de polarité croissante et donc les composés apolaires sont élués en premier (Tableau 5) (Caude and Jardy, 1994).

- Cas d'une colonne en phase inverse

La phase stationnaire est apolaire (silices greffées n-alkyle ou phényle, résines styrène-divinylbenzène). Plus la chaîne est longue, plus la silice greffée a un caractère apolaire. La phase mobile polaire est hydro-organique (mélange eau/solvant organique miscible comme le méthanol, éthanol, acétonitrile...). La maîtrise du pH est importante. En effet, un additif acido-basique est nécessaire pour amener sous forme moléculaire apolaire les solutés ionisables. Les solutés sont élués dans l'ordre de polarité décroissante. Les composés polaires sont élués avant les composés apolaires. La rétention diminue quand on augmente le caractère apolaire de l'éluant (Tableau 5) (Caude and Jardy, 1994).

Tableau 5. Comparaison des caractéristiques des deux types de CLHP (Heit, 2015).

	CLHP en phase normale	CLHP en phase inverse
Phase stationnaire	Polaire	Apolaire
Phase mobile (par gradient)	Gradient de plus en plus polaire	Gradient de plus en plus apolaire
Elution des composés	Les plus polaires sont élués en dernier	Les plus apolaires sont élués en dernier

1.2. Méthodes immunologiques

1.2.1. Méthode ELISA

La méthode ELISA (*Enzyme Linked Imuno-Adsorbent Assay*) est une méthode immunoenzymatique. Elle est très populaire actuellement en raison de son coût relativement faible et de son application facile (Turner et al., 2009).

- Principe

Cette technique repose sur la réaction Antigène-Anticorps et donc sur l'utilisation d'anticorps spécifiques, monoclonaux ou polyclonaux, dirigés vers la mycotoxine. La réaction est compétitive ou non selon que le réactif est limitant (méthode indirecte) ou en excès (méthode directe). La technique la plus utilisée est la méthode indirecte, par compétition, car elle s'applique aux antigènes de toute taille, y compris les haptènes. Dans ce cas, la détection est une réaction colorimétrique avec une enzyme liée à l'anticorps (Heit, 2015) (Figure 16).

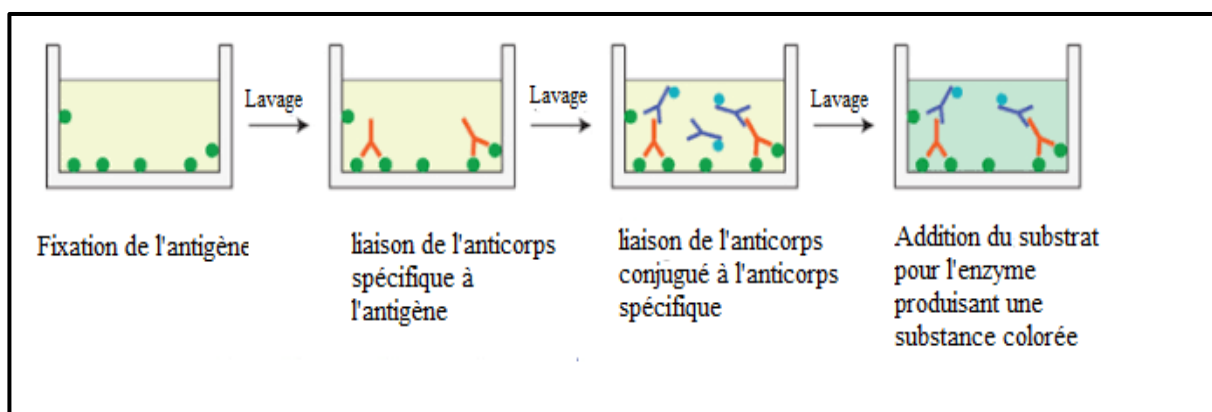


Figure 16. Les différentes étapes du test ELISA (Gauthier, 2016).

Les anticorps doivent être fortement spécifiques pour identifier les composés structurellement très différents. Les analyses immunochimiques telles que le test (l'enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) sont devenues très populaires dans le criblage des mycotoxines. Plusieurs études ont permis de développer les méthodes immunochimiques pour l'analyse des trichothécènes, l'ochratoxine A, la zéaralénone et la fumonisine B1 dans les céréales. Généralement, l'ELISA n'exige pas de procédures de nettoyage des extraits contenant la mycotoxine qui est directement analysée. En dépit de leur manque d'exactitude aux concentrations très basses et des fixations de concentrations maximales au-delà desquelles une confirmation chromatographique est nécessaire (Huybrechts et *al.*, 2013).

Les résultats analytiques, suite à une étude réalisée par Ekwomadu et *al* (2021) pour évaluer l'incidence des mycotoxines dans les maïs commercialisés à petite échelle dans le nord-ouest de l'Afrique du sud, ont signalé que la méthode HPLC était plus spécifique pour la détection des mycotoxines que la méthode ELISA.

Dans cette étude certains échantillons analysés ont montré des concentrations de mycotoxines plus élevées enregistrées par ELISA que la méthode HPLC, ceci a été attribué au fait que la technique ELISA n'inclut normalement pas de procédure de nettoyage de l'échantillon telle que l'IAC, qui donne des extraits plus propres, élimine les substances interférentes et facilite la détermination des mycotoxines. En outre, les solvants d'extraction peuvent également affecter les résultats ELISA, car il a été observé que l'utilisation des solvants organiques tels que le méthanol aqueux pourrait conduire à une co-extraction de matières grasses dans les échantillons, ce qui peut interférer avec le dosage. Cela peut avoir contribué à des valeurs plus élevées enregistrées par la méthode ELISA (Ekwomadu et *al.*, 2021).

Ces résultats concordent parfaitement avec l'étude menée par Egbuta et *al* (2015), qui visait à déterminer la co-occurrence de cinq mycotoxines majeures dans deux céréales nigérianes (maïs et riz) destinées à la consommation humaine. Ils ont signalé que l'analyse par HPLC a pu détecter la contamination par les mycotoxines à très faible concentrations dans les échantillons alimentaires analysés et cela confirme la sensibilité de cette méthode.

1.3. Avantages et inconvénient des méthodes analytiques

Le tableau ci-dessous énumère les avantages et les inconvénients des techniques analytiques les plus couramment utilisées dans la détermination des mycotoxines (Tableau 6).

Tableau 6. Avantages et inconvénients des techniques analytiques les plus couramment utilisées dans la détermination des mycotoxines (Pleadin et *al.*, 2019).

Techniques	Avantages	Inconvénients
Chromatographie sur couche mince (CCM).	Méthode de dépistage simple à réaliser, rapide et bon marché. Détection simultanée de plus d'une mycotoxine. Sensibilité satisfaisante vis-à-vis des aflatoxines et de l'ochratoxine.	Mauvaise sensibilité (lorsqu'il s'agit de certaines mycotoxines).
Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)	Sensibilité, sélectivité et répétabilité satisfaisantes Possibilité d'automatisation (un échantillonneur automatique). Analyse rapide. Disponibilité de techniques analytiques officiellement reconnues.	Équipement coûteux. Courbe d'étalonnage non linéaire. Reproductibilité et répétabilité variables.
ELISA	Préparation simple des échantillons, bon marché. Réactivité croisée avec des équipements similaires mais très sensibles. Détection simultanée de plus d'une mycotoxine. Utilisation limitée de solvants organiques.	Mycotoxines, possibilité de faux positifs/faux négatifs, nécessite l'utilisation ultérieure d'une méthode de confirmation

2. Méthodes de prévention

2.1. Méthodes naturelles

Actuellement, les méthodes naturelles de prévention des mycotoxines deviennent de plus en plus populaires. Par conséquent, l'utilisation de pratiques agronomiques spécifiques peut jouer un rôle clé dans la réduction des niveaux de contamination par les mycotoxines en contrôlant la biosynthèse des mycotoxines ainsi que la contamination et la croissance des moisissures pendant la culture des plantes (Munkvold, 2003).

Dans le cas du maïs, qui est une céréale essentielle utilisée dans l'industrie, des pratiques agricoles spécifiques sont en place pour réduire le risque de contamination par les mycotoxines. Parmi celles-ci, le recours au semis précoce fait partie des meilleures pratiques. Il existe des études qui montrent que pour réduire le risque de contamination par les fumonisines, il est nécessaire de semer tôt. Retarder le moment du semis des grains de maïs peut augmenter le risque de contamination non seulement par les fumonisines mais aussi par le déoxynivalénol et l'aflatoxine. La sélection de la période de semis optimale pour chaque région est probablement la meilleure technique pour contrôler la contamination du maïs par les principales mycotoxines (Jagoda et Woiletta, 2021).

Il est également possible de diminuer le niveau de contamination au champ par l'application de bonnes pratiques agricoles : pratiquer la rotation des cultures, labourer en profondeur pour enfouir les déchets végétaux, utiliser des variétés plus résistantes aux attaques fongiques et aux insectes, récolter par temps sec et régler les machines de récolte afin d'éliminer les grains abîmés au moment de la récolte des céréales. Les grains devront être conservés secs et l'humidité devra être éliminée au cours du stockage par une ventilation appropriée des silos (Jouany *et al.*, 2006).

2.2. Méthodes physiques

Les méthodes physiques sont nombreuses. Elles sont basées en général sur le lavage, le séchage, le broyage, le tri manuel, la séparation mécanique ou le traitement thermique.

Parmi les traitements physiques, un simple brossage superficiel ou un décorticage des grains seront particulièrement efficaces puisque les mycotoxines sont préférentiellement fixées sur leur enveloppe externe. Ces procédés simples permettent d'éliminer 60 à 80 % de déoxynivalénol. Un traitement par flottation permet d'éliminer 90 % des aflatoxines dans les arachides (Jouany *et al.*, 2006).

Les mycotoxines sont en général thermostables et elles résistent à tous les procédés utilisés pour l'élimination des microorganismes (chauffage et stérilisation). Peers et Linsell, 1975 ont observés dans leur étude que les aflatoxines restent stables dans les arachides ou dans le maïs après un chauffage à 200 °C pendant 30 minutes (Dieme *et al.*, 2016).

Les irradiations par des UV ou des rayons ionisants sont sans effet sur la plupart des mycotoxines (Jouany *et al.*, 2006).

2.3. Méthodes chimiques

Une variété d'agents chimiques tels que les acides, les bases (ammoniaque, soude), des agents oxydants (peroxyde d'hydrogène, ozone), des agents réducteurs (bisulfites), des agents chlorés, du formaldéhyde sont utilisés pour dégrader ou biotransformer les mycotoxines et plus particulièrement les aflatoxines (Yiannikouris et Jouany, 2002). Certains traitements chimiques comme l'ammoniaque sous pression à haute température peuvent dégrader les aflatoxines. Les fumonisines comme les aflatoxines sont sensibles à l'oxydation par les peroxydes et l'ozone. La fumonisine B1 réagit avec les glucides simples comme le glucose et le fructose pour former des bases de Schiff dont la toxicité est faible (Jouany *et al.*, 2006).

Des recherches menées en Afrique, l'extrait de la feuille de *Lippia multiflora* a montré un effet statique fongique sur *Aspergillus flavus* et *Fusarium verticillioides*. Les huiles essentielles, l'ozone, la terre à diatomées et les antioxydants alimentaires tels que l'hydroxyanisole butylé (BHA), l'hydroxytoluène butylé (BHT) et le parabène de propyle (PP) sont des options rentables non toxiques et prometteuses qui peuvent remplacer les conservateurs chimiques toxiques dans la lutte contre divers champignons y compris *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* (Dieme *et al.*, 2016).

2.4. Méthodes biologiques

Les méthodes biologiques s'avèrent plus spécialisées, plus efficaces et plus respectueuses de l'environnement. Les méthodes de contrôle biologique de la contamination par les mycotoxines comprennent, par exemple, l'utilisation de bactéries. Certaines d'entre elles ont une capacité de fixation des mycotoxines dans les aliments ou les liquides. *Flavobactérie aurantiacum* B-184 s'est avéré être la seule bactérie, parmi plus de 1000 testées pour une éventuelle dégradation de l'aflatoxine, capable d'éliminer de manière irréversible l'aflatoxine des solutions (Jagoda et Wioletta, 2021).

L'ochratoxine A est aisément dégradée en phénylalanine et en ochratoxine α non toxique par les carboxypeptidases A produites par de nombreux microorganismes comme *Phenyllobacterium* immobile, *Acinetobacter calcoaceticus* ou des levures. Ces activités microbiennes ont été utilisées pour produire des additifs alimentaires destinés à réduire les effets délétères des mycotoxines dans l'alimentation animale (Jouany et al., 2006). Ainsi, les glucomannanes issus de la partie externe des parois de la levure *Saccharomyces cerevisiae* sont capables de lier *in vitro* certaines mycotoxines. Leur grande capacité de liaison est due à leur large surface d'échange. Le ligand issu de la paroi cellulaire de la levure réduit de 58 % les concentrations d'AFM1 dans le lait de vache recevant des aliments contaminés par l'aflatoxine lorsqu'il est utilisé à un taux d'inclusion de 0,05 % de la matière sèche de la ration (Yiannikouris et Jouany, 2002).

2.5. Nouvelles méthodes de prévention

En termes de réduction des mycotoxines, de nouvelles approches ont montré que la contamination par les fumonisines peut être réduite en détoxifiant par l'action d'une enzyme microbienne (Keawmanee et al., 2021). En étude, la bactérie *Serratia marcescens* a été identifiée à partir de maïs avec une activité élevée vers la réduction de FB1. Une hydrolase et une transférase avec une expression accrue dans les cellules bactériennes ont également été trouvées, ce qui peut indiquer un potentiel de développement de FB1-enzymes réductrices. Les résultats de ces études ont montré que les enzymes hydrolase et transférase, qui peuvent coopérer pour la dégradation de la fumonisine, présentaient une expression élevée par rapport à leurs niveaux dans les échantillons témoins. Ces études ont montré que *Serratia marcescens* est une nouvelle bactérie ayant le potentiel de réduire la FB1 (Jagoda et Wioletta, 2021).

Une autre étude menée sur la dégradation de l'aflatoxine a montré que la dégradation microbienne (*Aspergillus niger*) est une méthode efficace et intéressante pour éliminer l'aflatoxine B1 (AFB1). De même, la capacité des enzymes intracellulaires ou celle des protéines avec une excellente thermotolérance à dégrader l'aflatoxine en métabolites peu ou pas mutagènes a été vérifiée dans cette étude (Fang, 2020). De plus, l'analyse de la séquence génomique a montré que le champignon était considéré comme sûr en raison de l'absence de gènes de virulence et de groupes de gènes pour la synthèse des mycotoxines. Ces résultats indiquent que *A. niger* et ses enzymes ou protéines intracellulaires ont un potentiel prometteur pour une utilisation commerciale dans la transformation des denrées alimentaires et des aliments pour animaux et dans l'industrie pour la détoxification (Jagoda et Wioletta, 2021).

Conclusion

Les moisissures sont des organismes ubiquitaires, susceptibles de se développer à tous les stades de la production agro-alimentaire ; que ce soit aux champs, au moment du stockage ou lors de la transformation. Du champ jusqu'à l'assiette du consommateur, de nombreux champignons sont susceptibles de se développer et de sécréter des toxines fongiques, si un certain nombre de conditions sont réunies (conditions environnementales favorables, composition idéale du milieu de croissance, présence d'insectes et de rongeurs...).

Les mycotoxines sont des composés issus du métabolisme secondaire des moisissures et sont dotées d'un potentiel toxique réel à l'égard de l'Homme et de l'animal. Les toxines fongiques se retrouvent à l'état de contaminants naturels dans de nombreuses denrées destinées à l'alimentation animale et humaine telles que les céréales. Les familles des mycotoxines considérées comme importantes d'un point de vue alimentaire et sanitaire sont les Aflatoxines, les Fumonisines, les Ochratoxines, les alcaloïdes de l'ergot du seigle, la Zéaralénone, la Patuline et les Trichothécènes. Ces toxines sont essentiellement produites par trois genres de champignons : *Fusarium*, *Aspergillus* et *Penicillium*.

Hormis leur impact économique pour les éleveurs, les agriculteurs et l'industrie agro-alimentaire, les mycotoxines représentent un réel danger pour la santé humaine et animale, par leur responsabilité dans l'apparition de phénomènes de toxicité aiguë et chronique. Leurs effets sont insidieux et difficilement quantifiables : cancérogenèse (Aflatoxines), hépatotoxicité, néphrotoxicité (Ochratoxines), immunotoxicité (Patuline), hématotoxicité (Trichothécènes), neurotoxicité (Fumonisines), tératogenèse, génotoxicité...etc. Cependant, la présence de toxines et de moisissures dans les aliments est aléatoire et rend délicate l'évaluation du risque mycotoxique, posant ainsi un problème de sécurité alimentaire.

La détection des mycotoxines est extrêmement importante en raison de leur toxicité. Les niveaux maximum admissibles de mycotoxines sont réglementés dans le monde entier par des actes juridiques pertinents, et le contrôle de leur présence dans certains produits est obligatoire pour assurer la sécurité alimentaire et protéger la santé des consommateurs potentiels. Les méthodes analytiques pour la détection des métabolites secondaires des moisissures comprennent des techniques immuno-chimiques, qui sont principalement utilisés pour les inspections de routine et la détection rapide sur site, et les techniques basées sur la chromatographie qui fournissent des déterminations sensibles, précises et sélectives d'espèces connues de mycotoxines.

Parmi les méthodes abordées dans ce travail, L'HPLC semble être plus spécifique pour la détection des mycotoxines que la technique ELISA. Les résultats de plusieurs études, réalisées dans cette optique, ont montrés que les valeurs des concentrations de mycotoxines enregistrées avec la méthode HPLC étaient nettement inférieures aux pourcentages enregistrés par ELISA, ce qui confirme la sensibilité de l' HPLC par rapport à l'ELISA. Quant à La méthode CCM, il s'est avéré que cette dernière ne peut pas détecter les faibles concentrations de mycotoxines.

Devant ce constat, il est nécessaire de mettre en place des moyens de lutte et de prévention tout au long de la chaîne alimentaire, comprenant des stratégies agronomiques, chimiques ,physiques et biologiques, ainsi que l'amélioration des conditions de récolte, de stockage et de transformation. La prévention passe donc par une sensibilisation des différents acteurs des professions de l'industrie agro-alimentaire (éleveurs, agriculteurs...), et aussi par l'information et l'éducation du consommateur.

Références bibliographiques

A

- ❖ Abdoullahi, H.O *et al.*, A 2019. Isolement et caractérisation de souches fongiques à partir de poisson fumes/sèches du lac Fitri au Tchad. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, **2**(4), 155-160.
- ❖ Adams, M.R., Moss, M.O., 2002. Toxinogenic fungi. *Food Microbiology*. RSC, UK, 282-301.
- ❖ Ait Abdelouahab, N., 2001. Microbiologie alimentaire. *Office des publications universitaires*, 52 p.

B

- ❖ Badillet, G., de Briève, C., Guého, E., 1987. Champignons contaminants des cultures, Baltimore.
- ❖ Basset, T et Laffont, C., 2011. Les contaminations fongiques. La lettre de l'OCIM [En ligne], (consulté le 10/04/2022) (<https://www.journals.openedition.org/ocim/99>).
- ❖ Bedossa, A., 2002. Cahier de formation biologie médicale : Les moisissures d'intérêt médical. Paris. 157 P.
- ❖ Bennet, J.W et Klich, M., 2003. Mycotoxines. *Clinic Microbiol Rév*, **16** (3), 497-516.
- ❖ Bensakhria, A. Appareil d'HPLC _Conception générale. [photo] In : Analytical toxicology disponible sur : (<https://www.analyticaltoxicology.com/author/ayoub/>) (consulté 06/06/2022).
- ❖ Bluhm, B.H., Woloshuk, C.P., 2005. Amylopectin induces fumonisin B1 production by *Fusarium verticillioides* during colonization of maize kernels. *Molecular Plant Microbe Interaction*, **18** (12), 1333-1339.
- ❖ Boudih, S., 2011. Identification des moisissures et leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers. Evaluation de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro. Thèse de doctorat : Science de la vie et de la santé. Paris : Université Paris Est, 185 P.

C

- ❖ Cairns-Fuller, V., Aldred, D., Magan, N., 2005. Water, temperature and gas composition interactions affect growth and ochratoxin A production by isolates of *Penicillium verrucosum* on wheat grain. *Journal of Applied Microbiology*, **99** (5), 1215-1221.
- ❖ Carlotti, A., 2014. Identification des moisissures. *Technologie/process*, **42**, 10-12.

- ❖ Castegnaro, M., Pfohl-Leszkowicz, A., 2002. Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans La sécurité alimentaire du consommateur, Lavoisier, Tec&Doc
- ❖ Caude, M., and Jarly, A., 1994. Chromatographie en phase liquide - Théorie et méthodes de séparation. Techniques de l'ingénieur - Chromatographie et techniques séparatives base documentaire : TIB385DUO.
- ❖ Caude, M., and Jarly, A., 1995. Chromatographie en phase liquide - Appareillage et Champignons opportunistes: Atlas clinique et biologique vol II. Paris : Varia.
- ❖ Chen, J., Mirocha, C.J., Xie, W. *et al.*, 1992. Production of the mycotoxin fumonisin B1 by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Applied and Environmental Microbiology*, **58**(12), 3928–3931.
- ❖ Chermette R., Bussieras J., 1993. Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par le Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort.

D

- ❖ Dieme, E *et al.*, 2016. Contamination des céréales par l'aflatoxine en Afrique : revue des méthodes de lutte existantes, **10**. (5), 2285-2299.

E

- ❖ E.Zain, M., 2010. Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi Chemical Society*, **15**(2), 129-144.
- ❖ Egbuta, M.A., Wanza, M.M., Dutton, M.F., 2015. Evaluation of five major mycotoxins co-contaminating two cereal grains from nigeria. *International journal of biochemistry research & review*, **6**(4), 160-169.
- ❖ Ekwomadu, T.I *et al.*, 2021. Analyse de mycotoxines sélectionnées dans le maïs du nord-ouest de l'Afrique du Sud à l'aide de la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et d'autres techniques analytiques. *Séparations*, **8**, 143 p.

F

- ❖ Fang, Q *et al.*, 2020. Dégradation et détoxification de l'aflatoxines B1 par des dérivés du thé *Aspergillus niger* RAF16. *Toxines*, **12** (12), 777.

G

- ❖ Gauthier, A., 2016. Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé. Thèse de doctorat : Science pharmaceutique. Paris : Université de Bordeaux, 120 p.
- ❖ Genevès, L., 1990. Biologie Végétale: Thallophytes et microorganismes. Paris : Bordas. 159 P.

- ❖ Genevès, L., 1992. Les thallophytes. In (Reproduction et développement des végétaux) Ed. DUNOD. Paris, pp. 5-16.

H

- ❖ Heit, S., 2015. Identification de *Fusarium* et détection des mycotoxines associées par MALDI-TOF. Thèse doctorat : Faculté de pharmacie. Nancy : Université de Lorraine, 114 P.
- ❖ Hocking, A.D., 2006. *Aspergillus* and related teleomorphs. *Food spoilage microorganisms*, 451-487.
- ❖ Horn, B.W., Wicklow, D.T. (1983). Factors influencing the inhibition of aflatoxin production in corn by *Aspergillus niger*. *Canadian Journal of Microbiology*, **29** (9), 1087-1091.
- ❖ Hubert, J., Stejskal, V., Munzbergová, Z. *et al.* (2007). Mites and fungi in heavily infested stores in the Czech Republic. *Journal of Economic Entomology*, **97** (6), 2144-2153.
- ❖ Huybrechts, B *et al.*, 2013. Méthodes analytiques de détermination des mycotoxines dans les produits agricoles. *Centre d'étude et de recherches vétérinaires et agrochimiques*, **22** (3), 202_215.

I

- ❖ Indge, B., 2004. La biologie de A à Z. 1100 définitions. Paris: Dunod, 344 P.

J

- ❖ Jagoda, K.P et Wioletta, B., 2021. Mycotoxines — Prévention, détection, impact sur la santé animale. *Processus*, **9**, 2-17.
- ❖ Jimenez, M. *et al.*, 2003. Sugars and amino acids as factors affecting the synthesis of fumonisins in liquid cultures by isolates of the *Gibberella fujikuroi* complex. *International Journal of Food Microbiology*, **89** (2-3), 185-193.
- ❖ Jouany, J.P., Morgavi, D.P., Boudra, H., 2006. Le Risque Mycotoxique Dans La Chaîne Alimentaire En France. *Centre de Clermont-Theix 63122 Saint Genès Champanelle*, **41**(3), 151-158.

K

- ❖ Keawamnee, P., Rattanakreetakul, C., Pongpisutta, R., 2021. Réduction microbienne de la fumonisine B1 par le nouvel isolat *Serratia marcescens*. *Toxines*, **13** (9), 638.
- ❖ Keller, S.E., Sullivan, T.M., Chirtel, S., 1997. Factors affecting the growth of *Fusarium proliferatum* and the production of fumonisin B1: oxygen and pH. *Industrial Microbiology, Biotechnology*. **19** (4), 305-309.

L

- ❖ Lachimie.fr. Exemple d'élution en chromatographie sur couche mince. [photo] In : lachimie.fr disponible sur : (<https://www.lachimie.fr/analytique/>) (consulté 06/06/2022).
- ❖ Lahouar, A., 2016. Mycotoxines et champignons mycotoxinogènes dans les grains de sorgho commercialisé en Tunisie : Incidence et profils écophysologiques. Thèse doctorat : Sciences Biologiques, Biotechnologie et Santé. Tunisie : Institut Supérieur de Biotechnologie de Monastir, 135 P.
- ❖ Lund, F., Frisvard, J.C., 2003. *Penicillium verrucosum* in wheat and barley indicates presence of ochratoxin A. *Journal of Applied Microbiology*, **95** (5), 1117-1123.

M

- ❖ Mahdjoubi, C.K *et al.*, 2020. Multi-Mycotoxin Occurrence and Exposure Assessment Approach in Foodstuffs from Algeria. *Journal toxins* [En ligne], **12** (3) (Page consultée le 12/03/2022) www.mdpi.com/journal/toxins.
- ❖ Marin, S., Magan, N., Serra, J.*et al.*, 1999. Fumonisin B1 production and growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* on maize, wheat, and barley grain. *Journal of Food Science*, **64** (5), 921-924.
- ❖ Mislivec, P.B., Trucksses, M.W., Stoloff, L., 1988. Effect of other toxigenic mold species on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in sterile broth shake culture. *Journal of Food Protection*, **51** (6), 449-451.
- ❖ Munkvold, G.P., 2003. Approche culturelles et génétiques de la gestion des mycotoxines dans le maïs. Annu.Rév. *Phytopathol*, **41**, 99-116.

N

- ❖ Nasraoui, B., 2015. Les champignons et pseudo-champignons pathogènes des plantes cultivées : Biologie, Nouvelle systématique, Interaction pathologique. Tunisie. 180 P.
- ❖ Navale, V. *et al.*, 2021. *Aspergillus* derived mycotoxins in food and the environment: Prevalence, detection, and toxicity. *Toxicology Reports*, **8**, 1008-1030.
- ❖ Nelson, P.E., Toussoun, T.A., Marasas, W.F.O., 1983. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania state univ. Editor. 206 P.

P

- ❖ Peers, F.G et Linsell, C.A., 1975. Aflatoxin contamination and its heat stability in Indian cooking oil. *Trop sci*, **17** (4), 229-232.
- ❖ Pfohl-Leskowicz, A., 1999. Métabolisation des mycotoxines- Effets biologiques et pathologies- Ecotoxicogène. Dans « Les mycotoxines dans l'alimentation :

évaluation et gestion du risque » de Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. Technique et Documentation, Paris, pp. 18- 35.

- ❖ Pfohl-Leszkowicz, A., 2001. Définition et origines des mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque, Ed. Tec & Doc, 3-14.
- ❖ Piacentini, K et *al.*, 2018. Assessment of toxigenic *Fusarium* species and their mycotoxins in Brewing Barley Grains. *Toxins*, **11**(1), 31.
- ❖ Pitt, J. I., Hocking, A.D., 1997. Fungi and food spoilage. London: Blackie Academic and Professional. Applications. Techniques de L'ingénieur - Chromatographie et Techniques Séparatives base documentaire: TIB385DUO.
- ❖ Pleadin, J *et al.*, 2019. Mycotoxins in food and feed. *Advances in Food and Nutrition Research*, **89**, 297-345.

R

- ❖ Ramos, A.J. *et al.*, 1998. Effect of water activity and temperature on growth and ochratoxine production by three strains of *Aspergillus ochraceus* on a barley extract medium and on barley grains. *International Journal of Food Microbiology*, **44** (1-2), 133-140.
- ❖ Raper, K., Fennell, D.J., 1965. The fungi: The genus *Aspergillus*. *Science*, **150**, 736-737.
- ❖ Richard, J.L., 2007. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses: An overview. *International Journal of Food Microbiology*, **119** (1-2), 3-10.
- ❖ Royer, G et Tap, J., 2004. Les mycotoxines, 1_7.

S

- ❖ Samson, R.A., Varga, J., 2009. Qu'est-ce qu'une espèce dans *Aspergillus*? . *Mycologie Médicale*, **47** (1), 13_20.

T

- ❖ Tabuc, C., 2007. Flore Fongique de Différents Substrats et Conditions Optimales De Production des Mycotoxines. Thèse doctorat : Pathologie, Mycologie, Génétique et Nutrition. Toulouse : UPSP de Mycotoxicologie, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse Laboratoire Biologie Animale, IBNA Balotesti, 167 P.
- ❖ Troller, J.A., 1980. Influence of water activity on microorganisms in foods. *Food Technology*, **34** (5), 76-82.
- ❖ Turner, N.W., Subrahmanyam, S., and Piletsky, S.A., 2009. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Analytica Chimica Acta*, **632** (2), 168–180.

V

- ❖ Visagie, C.M *et al.*, 2014. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, **78**, 343–371.

Y

- ❖ Yiannikouris, A., Jouany, J.P., 2002. Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal. *INRA, Unité de Recherches sur les Herbivores*, **15** (1), 3-16.

Z

- ❖ Zummo, N. Scott, G.E., 1992. Interaction of *Fusarium moniliforme* and *Aspergillus flavus* on kernel infection and aflatoxin contamination in maize ears. *Plant Disease*, **76**, 771-773.

Annexes

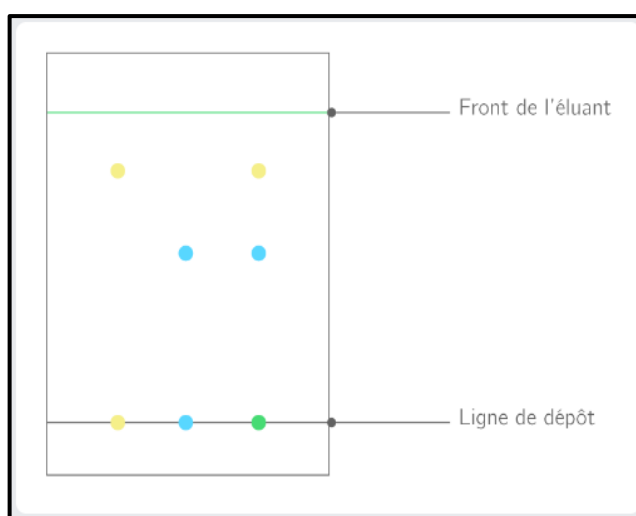
Annexe.1

Rapport Frontal

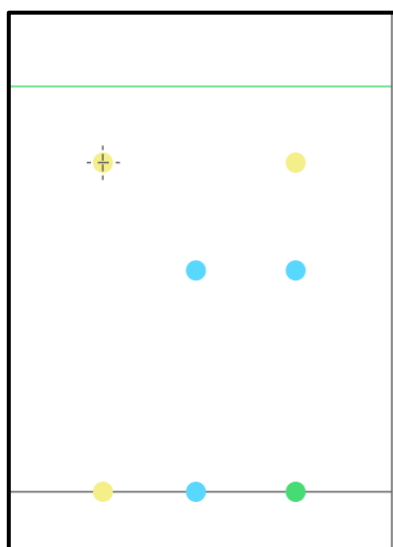
$$RF = \frac{\text{Distance parcourue par un contituant}}{\text{Distance parcourue par l'éluant}}$$

Calculer le Rapport Frontal

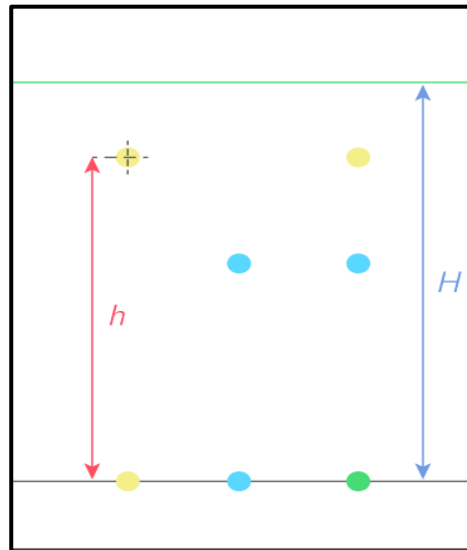
Etapes 1: Repérer la ligne de dépôt et le front de l'éluant



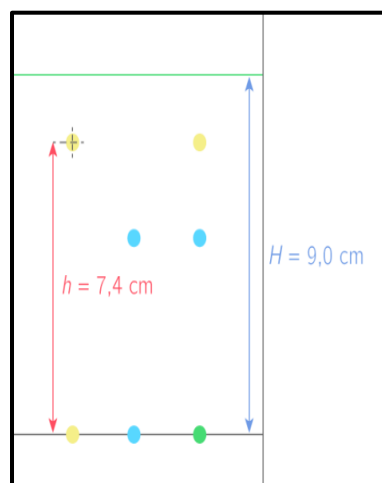
Etape 2: Repérer et presenter le centre de la tache correspondant à l'espèce chimique considérée.



Etape 3: Reperer et représenter les hauteurs atteintes par l'espèce chimique et par l'éluant



Etape 4: Mesurer les hauteurs atteintes par l'espèce chimique et par l'éluant



Etape 5: Appliquer la formule

$$RF = \frac{h}{H}$$

On effectue l'application numérique

$$RF = \frac{7,4}{9,0} = 0.82$$

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : KHANFAR Malek

BENLAHRECHE Nourelhouda

ZAOUNI Marwa

**Evaluation des principales méthodes analytiques de détection des mycotoxines
produites par des moisissures contaminants les céréales.**

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Mycologie et biotechnologie fongique

Les moisissures sont des contaminants fréquents de nombreux substrats d'origine végétale. Leur présence peut améliorer la qualité organoleptique du produit ou, au contraire, l'altérer et conduire à l'accumulation de métabolites secondaires toxiques. Notre étude, basée sur une recherche bibliographique, qui traite les moisissures toxigènes contaminants les céréales, destinés à l'alimentation humaine et animale, a pour but de présenter et d'évaluer les différentes techniques d'analyse et de détection des mycotoxines, car le contrôle de ces substances dans l'alimentation, est d'une extrême importance en raison de la toxicité et du danger qu'elles peuvent présenter pour la santé des consommateurs. Cette étude suggère que parmi les méthodes présentées : CCM, ELISA et l'HPLC semble être une technique de premier choix en matière d'efficacité et constitue de ce fait un excellent moyen pour l'analyse et la détection des mycotoxines.

Mots-clefs : Les céréales, Moisissures toxigènes, Mycotoxines, CCM, HPLC, ELISA.

Encadreur : Mme BOULTIFAT Linda (MCB - UFM, Constantine 1).

Examineur 1 : Mme LEGHLIMI Hind (MCA - UFM, Constantine 1).

Examineur 2 : Mr BOULAHROUF Khaled (MCB - UFM, Constantine 1).