



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida



Université Saad
Dahlab-Blida 1-

Projet de fin d'études en vue de l'obtention du

Diplôme de Docteur Vétérinaire

***Les champignons et les mycotoxines dans l'alimentation
des ovins et leurs effets***

Présenté par

Aiche Siham et Arbane Sonia

Devant le jury :

Président(e) :	Mr. DAHMANI ALI	Maître de conférences	Université de Blida B
Examineur :	Mr. DAHMANI HICHEM	Maître de conférences	Université de Blida B
Promoteur :	Mr. METREF AHMED KHIRELINE	Maître de conférences	Université de Blida B

Année : 2019/2020

REMERCIEMENT

Nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont contribué et nous ont aidé d'une façon ou d'une autre pendant notre travail de mémoire.

Nous voudrions dans un premier temps remercier, notre promoteur de mémoire Dr A.METREF, Maître de conférence B pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

Nous remercions également toute l'équipe pédagogique de l'institut nationale vétérinaire, l'université de Saad Dahlab Blida et les intervenants professionnels responsables de notre formation, pour avoir assuré la partie théorique de celle-ci.

Nous tenons aussi à exprimer notre gratitude à docteur BIBIMOUNE du laboratoire de AVCQ qui nous a permis de réaliser notre partie expérimentale et pour tous ses conseils et d'avoir partagé ses connaissances et expériences dans ce milieu

Nos parents, pour leur soutien constant et leurs encouragements.

DÉDICACE :

Je dédie ce modeste travail

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE TASSADIT ET MON TRÈS CHER PÈRE BELAID

Quoique je dise et que je fasse je ne serai point vous remercier comme il se doit, de votre amour votre bienveillance, votre soutien vos encouragements pendant toutes ces année d'études.

A MES TRÈS CHÈRES SŒUR (NABILA, CILIA , LYDIA) ET MON FRÈRE LOUNES

Pour leurs amour et leurs soutiens dans les moments les plus pénible puisse dieu tout puissant vos donner santé réussite et bonheur.

A MON CHER BINÔME ET AMIE SIHAM

Je n'aurai pu imaginer de meilleur binôme et amie pour ce travail.

A MA TRÈS CHÈRE COUSINE NACIRA

Quim'asoutenu et encouragé et a su m'écouter.

A MES TRÈS CHÈRES AMIES

Asma, kahina, Sarah, les choukiww

A MON PETIT NEVEU

Smail que j'aime

SONIA

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents, mon père Ahcen et ma mère Rabia pour tous leurs sacrifices, leurs amour, leurs tendresse, leurs soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes très chères sœurs Fahima et Mélissa pour leurs encouragements permanents et leur soutien moral,

A mon très cher frère Rabah et son épouse pour leur appui et leurs encouragements,

A mon très cher neveu Jugurtha,

A ma grand-mère Faroudja qui m'a accompagné par ses prières puisse Allah lui prêter Longue vie et santé,

A mon cousin Rachid pour son aide et ses encouragements tout au long de mon Parcours universitaire,

A mon binôme Sonia pour son soutien moral et sa patience tout au long de ce projet.

A tous mes amis sarah, kahina, kenza, roufida

SIHAM

LISTE DES ABRÉVIATIONS :

UV : ultra-violet

AF : aflatoxine

OTA : ochratoxine A

UICPA : l'Union internationale de la chimie pure et appliquée

ZEA : zéaralénone

FB : fumonisines du groupe B

TCT : trichothécène

DAS : diacétoxyscirpénol

DON : déoxynivalénol

AFSSA : agence française de sécurité sanitaire des aliments

MAS: monoacétoscirpénol

AFB1: aflatoxine B1

OH-OTA: hydroxy-ochratoxine A

UDPGT : uridinediphosphateglucuronyl transférases

AESA : autorité européenne de sécurité des aliments

FB1 : fumonisine du groupe 1

DL50 : dose létale médiane

ADN: acide désoxyribonucléique

HSCAS: hydrated sodium calcium aluminosilicate

CCM : chromatographie sur couche mince

CPG : chromatographie gazeuse

CLHP : chromatographie liquide haute performance

ELISA : Enzyme-LinkedImmunosorbentAssay

PCR : Polymerase Chain Reaction

ARN : acide ribonucléique

PV : poids vif

µg : microgramme

DOM-1 : deepoxydeoxynivalenol

LISTE DES FIGURES

<i>Figure 1: structure d'aflatoxine.</i>	9
<i>Figure 2: structure de l'ochratoxines</i>	11
<i>Figure 3: structure de la patuline</i>	12
<i>Figure 4: la structure de la zéaralenone</i>	14
<i>Figure 5: la structure des fuminiens.</i>	16
<i>Figure 6: les alcaloïdes de l'ergot</i>	17
<i>Figure 7: les trichotécènes</i>	18
<i>Figure 8: Métabolisme de l'aflatoxine B1 dans le foie (Yiannokouris et Jouany ,2002)</i>	26
<i>Figure 09 : fréquence d'apparitions des espèces fongique</i>	61

LISTE DES TABLEAUX

<i>Tableau 1:importance et diversité des mycotoxines Santé animale,nutrition et mycotoxines Isabelle P. OSWALD, Ing. agr., Ph. D</i>	<i>7</i>
<i>Tableau 2:le devenir des différentes mycotoxines dans le rumen des bovins(FANGEAT ,2008).</i>	<i>23</i>
<i>Tableau 3:tableau récapitulatif des symptomes de l'intoxication à l'ergot chez les ovins.</i>	<i>31</i>
<i>Tableau 4:absorptions des differente mycotoxines par HSCAS .</i>	<i>43</i>
<i>Tableau 5: estimations des dégats économique en Millions de \$ Australiens, causés par différents champignons et aflatoxines en Indonésie, aux Philippines et en Thaïlande en 1991 (Zinedine, 2004).</i>	<i>54</i>
<i>Tableau 6 :matériels utilisés</i>	<i>59</i>
<i>Tableau 7: résultats</i>	<i>67</i>
<i>Tableau 8: fréquence d'apparition des espèces fongique</i>	<i>67</i>
<i>Tableau 9: tableau récapitulatifs</i>	<i>73</i>

RÉSUMÉ :

Les mycotoxines sont des substances toxiques sécrétées par des champignons microscopiques ou des moisissures telles qu'Aspergillus, penicillium, fusarium... pouvant se développer sur la plante au champ ou en cours de stockage. Ces toxines se retrouvent à l'état de contaminants naturels de nombreuses denrées d'origine végétale : céréales, fruits, noix, amandes, grains, fourrages ainsi que d'aliments composés et manufacturés issus de ces filières. La toxicité des mycotoxines se révèle lors des mycotoxicoses des animaux d'élevage. Elle est variable, certaines exerçant un pouvoir hépatotoxique voire cancérigène (aflatoxines), d'autres se révélant oestrogéniques (zéaralénone), immunotoxiques (patuline, trichothécènes, fumonisines), néphrotoxiques (ochratoxine A) ou neurotoxiques.

A la lumière des traits de plus en plus intéressants entre la présence de champignons dans l'alimentation et l'apparition de certaines maladies dans des élevages, nous avons jugé utile de débiter notre travail par l'isolement et l'identification des champignons à partir d'échantillons prélevés dans l'alimentation d'élevage ovins situé dans la région d'Alger et Blida.

L'étude a été conduite en utilisant des cuillers stériles qui nous ont permis de prélever une quantité représentative d'aliments des élevages ovins en question puis faire une analyse au laboratoire. D'après les résultats obtenus on remarque la manifestation de trois genres: Aspergillus, Penicillium, trichoderma. Le genre Aspergillus regroupe le nombre des espèces le plus élevé. En second lieu on a recueilli des informations sur les élevages et on a constaté que plusieurs des maladies présentes sont peut-être dûes aux mycotoxines secrétées par les champignons trouvés dans l'alimentation, comme l'apparition d'ecthyma contagieux et la présence du champignon trichoderma qui secrète les trichothécènes et aussi la présence de plusieurs troubles respiratoires ainsi que des baisses d'appétit qui peuvent être entre autres dûes à la présence et l'ingestion de l'ochratoxine A et aflatoxines produites par aspergillus et penicillium trouvés dans l'alimentation.

L'évaluation du risque mycotoxique demeure délicate car ce risque est d'essence naturelle, l'homme n'en maîtrisant pas la survenue ; il est pernicieux car la contamination fongique est difficilement contrôlable et enfin il peut être multiple en raison de la possible association d'effets de toxines produites par une même moisissure. Devant ce constat, il convient de poursuivre une activité de recherche soutenue afin d'améliorer encore nos connaissances sur la toxicité de ces dérivés et notamment dans les cas d'associations entre mycotoxines ou entre toxines et agents pathogènes infectieux.

Mots clés : moisissures, champignons, mycotoxine, alimentations, ovins, maladies.

ABSTRACT:

Mycotoxins are toxic substances secreted by microscopic fungi or molds such as *Aspergillus*, *penicillium*, *fusarium* ... which can develop on the plant in the field or during storage. These toxins are found as natural contaminants in many plant-based foods: cereals, fruits, nuts, almonds, grains, fodder, as well as compound and manufactured foods from these sectors. The toxicity of mycotoxins is revealed during mycotoxicosis in farm animals. It is variable, some exerting hepatotoxic or even carcinogenic power (aflatoxins), others proving to be estrogenic (zearalenone), immunotoxic (patulin, trichothecenes, fumonisins), nephrotoxic (ochratoxin A) or neurotoxic.

In light of the increasingly interesting features between the presence of fungi in the diet and the appearance of certain diseases in farms, we deemed it useful to start our work by isolating and identifying fungi from samples taken from sheep farm feed located in the region of Algiers and Blida

The study was carried out using sterile spoons which allowed us to take a representative quantity of feed from the sheep farms in question then to carry out an analysis in the laboratory. According to the results obtained, we notice the manifestation of three genera: *Aspergillus*, *Penicillium*, *trichoderma*. The genus *Aspergillus* has the highest number of species. secondly we collected information on the farms and we found that many of the diseases present are perhaps due to the mycotoxins secreted by the fungi found in the diet, such as the appearance of contagious ecthyma and the presence of the fungus *trichoderma* which secretes trichothecenes and also the presence of several respiratory disorders as well as decreased appetite which can be among other due to the presence and ingestion of ochratoxin A and aflatoxins produced by *aspergillus* and *penicillium* found in food

The assessment of the mycotoxic risk remains delicate because this risk is of natural essence, the man not controlling the occurrence; it is harmful because the fungal contamination is difficult to control and

Finally, it can be multiple due to the possible association of toxin effects produced by the same mold. In view of this, it is necessary to pursue sustained research activity in order to further improve our knowledge of the toxicity of these derivatives and in particular in the case of associations between mycotoxins or between toxins and infectious pathogens.

Key words: molds, fungi, mycotoxin, feeds, sheep, diseases

ملخص:

السموم الفطرية هي مواد سامة تفرزها الفطريات المجهرية مثل: الاسبرجيلوس, البنسليوم, الفيوزاريوم ... و التي يمكن أن تتطور على النبات في الحقل أو أثناء التخزين. تم العثور على هذه السموم كملوثات طبيعية في العديد من الأطعمة النباتية: الحبوب و الفواكه و المكسرات و اللوز و الأعلاف, و كذلك الاطعمة المركبة و المصنعة من هذه القطاعات. تم الكشف عن سمية السموم الفطرية اثناء التسمم الفطري في حيوانات المزرعة. و هي متغيرة و بعضها يمارس طاقة كبدية او حتى مسببة للسرطان (الافلاطوكسينات), و البعض الاخر يثبت انه استروجينيك (زيارانيلون), سام مناعي (الباتولين, تريكوتيسين, الفومونيزين), سام كلوي (الاكراتوكسين ا) او سام عصبي .

في ضوء السمات المثيرة للاهتمام بشكل متزايد بين وجود الفطريات في النظام الغذائي و ظهور بعض الامراض في المزارع. فقد اعتبرنا انه من المفيد بدء عملنا من خلال عزل و تحديد الفطريات من عينات مأخوذة من اعلاف الاغنام في منطقتي الجزائر و البلدية .

الدراسة باستخدام ملاقع معقمة سمحت لنا باخذ كمية ممثلة من الاعلاف من مزارع الاغنام المعنية ثم اجراء تحليل في المختبر ووفقا للنتائج التي تم الحصول عليها نلاحظ ظهور ثلاثة اجناس الاسبرجيلوس, البنيسليوم والترايكوديرما . جنس الاسبرجيلوس لديه اكبر عدد من الانواع . ثانيا قمنا بجمع معلومات عن المزارع ووجدنا ان العديد من الامراض الموجودة ربما ترجع الى السموم الفطرية التي تفرزها الفطريات الموجودة في النظام الغذائي مثل ظهور الاكزيما المعدية ووجود الفطريات تريكوديرما الذي يفرز الكريات الثلاثية و كذلك وجود العديد من الاضطرابات التنفسية و كذلك انخفاض الشهية التي يمكن أن تكون من بين أمور أخرى بسبب وجود و ابتلاع الاوكراتوكسينات التي تنتجها الاسبرجيلوس و البنيسليوم الموجودة في الطعام .

لا يزال تقييم خطر التسمم الفطري دقيقا لان هذا الخطر ذو طبيعة طبيعية, فالرجل لا يتحكم في حدوثه انه ضار لان من الصعب السيطرة على التلوث الفطري.

و اخيرا, يمكن ان يكون متعددا نظرا لاحتمال ارتباط تأثيرات السموم الناتجة عن نفس العفن. بالنظر الى هذه الملاحظة, من الضروري مواصلة نشاط بحثي مستدام من اجل زيادة تحسين معرفتنا بشأن سمية هذه المشتقات و خاصة في حالات الارتباط بين السموم الفطرية او بين السموم و مسببات الامراض المعدية.

الكلمات الرئيسية: قوالب، الفطريات، السموم الفطرية، الغذاء، الأغنام، الأمراض.

Sommaire

Remerciement	II
Dédicace	III
Liste des abréviations	V
Liste des figures	VI
Liste des tableau	VII
Introduction	1

PARTIE 01 : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

<i>Chapitre 01 : principales mycotoxine</i>	<i>4</i>
I Définitions	5
I.1 Moisissure	5
I.2 Mycotoxine	5
II Principale mycotoxines chez les ruminants	7
II.1 Aflatoxine :	7
II.1.1 Structure	8
II.1.2 Propriétés physico-chimiques	9
II.1.3 Moisissures productrices d'aflatoxines	10
II.2 Les ochratoxines :	10
II.2.1 Propriétés physico-chimiques	11
II.2.2 Moisissures productrices d'OTA	12
II.3 La Patuline	12
II.3.1 Propriétés physico chimique	13
II.3.2 Moisissure productrices de patuline	13
II.4 Zéaralénone	14
II.4.1 PROPRIÉTÉS PHYSIQUES ET CHIMIQUES	14
II.4.2 Moisissures productrices – Toxinogène	15
II.5 Fumonisines	15
II.5.1 Propriétés physico chimique	16
II.5.2 Moisissures productrices des fuminiens	16
II.6 Alcaloïdes de l'ergot du seigle	17

II.6.1	Propriétés physico-chimiques.....	17
II.6.2	Moisissures productrices	18
II.7	Les trichothécènes :	18
II.7.1	Moisissures productrices :	19
chapitre 02	: effets et devenir des mycotoxines chez les ruminants	20
III	Effets et devenir des mycotoxines chez les ruminants:	21
III.1.1	Dans le rumen :	21
III.1.2	Dans l'intestin, le foie et les reins :.....	23
III.2	Les effets sur la santé des ruminants :.....	26
III.2.1	Les effets généraux des mycotoxines :.....	27
III.2.2	Les effets spécifiques des mycotoxines :.....	27
III.2.2.1	Aflatoxine :	27
III.2.2.2	les ochratoxines :	28
III.2.2.3	la patuline :.....	28
III.2.2.4	La zéaralénone :	29
III.2.2.5	Fumonisines :.....	29
III.2.2.6	Alcaloïdes de l'ergot de seigle :.....	30
III.2.2.7	Trichotécènes :.....	31
chapitre 03:	moyens de lute.....	33
IV	Moyens de lute :	34
IV.1	Préventions des infections des aliments par les mycotoxines.....	34
IV.1.1	Semis.....	34
IV.1.2	Récolte	36
IV.1.3	Entreposage.	37
IV.2	Traitement des aliments contenant des mycotoxines.....	39
IV.2.1	Méthode physicochimique	39
IV.2.1.1	Traitement thermique	39
IV.2.1.2	Oxydo-réduction.....	40
IV.2.1.3	L'ammoniation.....	40
IV.2.2	Adsorption des toxines	40
IV.2.2.1	ARGILES.....	41
IV.2.3	Les levures ou produits dérivés de levure.	44
IV.2.4	Les bactéries lactiques	44

chapitre: 05 moyens d'analyses et de diagnostic des champignons et les mycotoxines	46
V Moyens d'analyses et de diagnostic des champignons et les mycotoxines.	47
V.1 L'ECHANTILLONNAGE	47
V.2 Les différentes méthodes d'analyse des mycotoxines:	49
V.2.1 méthodes physico-chimiques :.....	49
V.2.2 Méthodes immunologiques.....	50
V.3 Les différentes méthodes d'analyses des champignons :.....	50
V.3.1 Culture sur boîte de pétri :	50
V.4 Principe de la PCR.....	51
chapitre :05 les conséquences économique et sanitaire des champignons et mycotoxines	52
VI Les conséquences économiques et sanitaires des mycotoxines :.....	53
PARTIE 02 : PARTIE PRATIQUE	
I Introduction.....	57
II Matériel et méthodes :	58
II.1 Présentation du lieu de l'étude :.....	58
II.1.1 Présentation des élevages :	58
II.2 Matériels utilisés :.....	59
II.3 Méthodologie de travail sur le terrain:	61
II.3.1 Echantillonnage :.....	61
II.4 Méthodologie de travail au laboratoire :	61
II.4.1 Préparations du milieu de culture :	61
II.4.2 Préparation des échantillons :.....	62
II.4.3 L'ensemencement.	63
II.4.4 Incubation :.....	64
II.4.5 L'identification :.....	64
III Résultats :.....	65
IV Discussion :	68
IV.1 Tableau récapitulatif :.....	71
Conclusions	71
Références bibliographique.....	72

Introduction :

Les maladies animales d'origine alimentaire constituent à l'heure actuelle l'un des problèmes les plus répandus à l'échelle internationale. Leurs répercussions sur la santé animale et sur l'économie sont de plus en plus largement reconnues. Ces maladies sont causées par divers agents en particulier les microorganismes pathogènes. En plus des virus et des bactéries pathogènes, les champignons toxigènes constituent un danger réel pour la santé animal par la sécrétion de substances hautement toxiques (mycotoxines) au cours de leur prolifération (Pavel, 2010).

Le terme mycotoxine provient du grec ancien « mycos », qui signifie champignon, et du latin « toxicum » signifiant poison. sont des toxines élaborées par divers espèces de champignons microscopique telles que les moisissures (Aspurgillussp ,Fusariumsp...).

Les premières épidémies de mycotoxines furent décrites durant l'antiquité et s'apparentaient à l'ergotisme, plus tard nommée « feu de Saint Antoine » ou « mal des ardents ».

D'autres mycotoxines ont été décrites plus tardivement comme L'Aleucie Toxique Alimentaire, causée par les trichothécènes et apparue en Russie dans les années 30,ou encore la maladie « X »du dindon, due aux aflatoxines.

Les mycotoxines retiennent l'attention dans le monde entier en raison des pertes économique importante qui sont liées à leurs effets sur la santé de l'homme, la productivité animale ainsi que des barrières commerciale indésirables pour les matières premières et les produits consommables.

Les données expérimentales et l'expérience clinique suggèrent que les ruminants sont moins sensibles que d'autres espèces animales aux effets néfastes sur la santé, associés à l'exposition aux mycotoxines. Cette hypothèse est basée sur la constatation selon laquelle la flore ruminale peut convertir un certain nombre de mycotoxines en métabolites qui sont moins puissants ou même biologiquement inactifs à des niveaux d'exposition communs. Cela ne

concerne pas, toutefois, toutes les mycotoxines contaminant les matières premières. (BOUCON, 2016).

En Algérie, le développement des champignons et la production de mycotoxines dans l'alimentation animale est mal connue; peu d'études ont été réalisées et les conséquences restent actuellement sous-estimée chez les animaux et chez l'homme. Dans ce contexte, le but de ce travail de fin d'études est de décrire et d'étudier les champignons et leur métabolite les mycotoxines qui se développent dans l'alimentation des ovins et leurs impacts sur la santé.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 01 :

LES PRINCIPALES MYCOTOXINES CHEZ LES RUMINANT

Chapitre 01 : les principale mycotoxines chez les ruminant

I Définitions

I.1 Moisissure

Le mot Moisissure est un terme générique qui regroupe tous les champignons microscopiques d'aspect lévuriforme ou filamenteux (micromycètes). Ce sont des champignons ubiquistes à croissance filamenteuse. Par ailleurs, ils sont saprophytes (plus rarement parasites), c'est-à-dire qu'ils vivent aux dépens de matières organiques en décomposition en y implantant leur mycélium, qui émet alors des filaments porteurs de spores, les unités de dissémination (Bouchet P, Guignard J-L, Pouchus Y-V.2005). Ces spores sont issues d'un mécanisme de reproduction sexuée ou asexuée.

.Les micromycètes peuvent être bénéfiques et prendre part à la transformation de matières premières alimentaires (notamment lors de la fermentation), dans la production d'enzymes, de protéines, ou encore d'agents aromatiques. Ils peuvent aussi être utilisés dans la production de médicaments comme les antibiotiques (ex : amoxicilline), les immunosuppresseurs (ex : ciclosporine) ou les anticorps monoclonaux. Cependant, une souche employée à ces fins n'est pas nécessairement atoxique.

En effet, certaines souches sont nuisibles et interviennent dans l'altération des denrées alimentaires, ainsi que dans la production d'agents pathogènes pour l'Homme et l'animal. Certaines souches au sein d'une même espèce ne sont pas obligatoirement toxigènes.

I.2 Mycotoxine

Le terme Mycotoxine provient du grec ancien « Mycos », qui signifie champignon, et du latin « Toxicum » signifiant poison. Les mycotoxines sont donc des substances toxiques, sécrétées essentiellement par les micromycètes. Ce sont plus précisément des métabolites dits secondaires, c'est-à-dire qu'ils ne sont pas indispensables au fonctionnement des champignons. Ils résultent de la dégradation de métabolites primaires rassemblant les sucres, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques, qui eux participent à la nutrition et à la croissance d'un organisme(Pfohl-

Leszkowicz A.1999). Elles sont, chez l'animal et l'humain qui en consomment, à l'origine d'effets biologiques nocifs regroupés sous le terme de mycotoxicoses.

Environ 25 % des produits alimentaires seraient contaminés par des toxines fongiques. On estime entre 200 000 et 300 000 le nombre d'espèces composant la microflore. Il existe donc une grande diversité de mycotoxines. Sur plus de 400 mycotoxines recensées, seul Trentaine de molécules possède des propriétés toxiques inquiétantes (Mannon J, Johnson E. 1985). Certaines de ces toxines sont supposées cancérogènes ou mutagènes, tandis que d'autres sont toxiques pour les reins, le système nerveux ou encore le foie. Par ailleurs, il convient de noter que la toxicité ne provient pas forcément de la mycotoxine elle-même, mais peut être due à l'un de ses métabolites issus de sa dégradation.mais peut se révéler délétère dans certaines conditions.

II Principale mycotoxines.

Les genres les plus importants de point de vue économique et médical sont les *Aspergillus*, les *Penicillium* et les *Fusarium* qui représentent les contaminants les plus fréquents des aliments. On les retrouve principalement dans les céréales, mais aussi dans de nombreux autres produits végétaux et d'origine animale.

Champignons	Mycotoxines	Matières premières
Aspergillus	Aflatoxines Ochratoxine A Patuline	Maïs, arachides, coton, semences, riz, haricots, lait, tissus animaux, ensilage
Fusarium Gibberella	Trichothécènes, zéaralénone Fumonisines, fusarine C	Blé, maïs, orge, riz, seigle, avoine, noix
Penicilium	Patuline, citrinine, Ochratoxine A, acide cyclopiazonique	Fruits, jus de fruits, blé, riz Fromage, noix, tissus animaux, ensilage, fromage
Byssochlamys	patuline	Fruits et jus de fruits, ensilage
Claviceps	Alcaloïdes de l'ergot	Seigle, blé
Alternaria	Alternariol Acide ténuazonique	Fruits, légumes Pommes et tomates

Tableau 1:importance et diversité des mycotoxines Santé animale, nutrition et mycotoxines Isabelle P. OSWALD, Ing. agr., Ph. D

II.1 Aflatoxine :

Les aflatoxines sont les mycotoxines les plus connues. Étudiées depuis de nombreuses années, beaucoup d'effets néfastes sont rapportés.

Elles sont carcinogènes, hépatotoxiques, tératogènes, et immunosuppressives (Ciegler; 1975; Thaxton et al. 1974). Ces effets ont été mis en évidence dans

les années 60, lorsqu'une vague de mortalité toucha les élevages de dindons en Angleterre (Blount, 1961).

Ce fût d'ailleurs la première fois que l'on associa une pathologie à la présence de moisissures dans l'alimentation.

Les investigations ont permis de montrer qu'il s'agissait d'un champignon du genre *Aspergillus* qui produisait des métabolites que l'on appela aflatoxines (Asao et al, 1963).

Même si *Aspergillus flavus* fût rapporté en premier, d'autres producteurs de mycotoxines ont été documentés, comme *A.parasiticus* (Parrish et al, 1966 ; Wilson et al; , 1968).

Il existe différents type d'aflatoxines, *A. flavus* pouvant produire les aflatoxines B1 et B2, *A.parasiticus* et *A. nomius* pouvant produire, en plus, les aflatoxines G1 et G2. On rencontre *A. flavus* partout, principalement comme contaminant du maïs et du coton. *A.parasiticus* est plutôt rencontré dans les régions tropicales et semi-tropicales (Hesseltin and al, 1966,1972), surtout dans les graines d'arachides (Davis et Diener, 1983).

II.1.1 Structure

La structure de base de la molécule d'aflatoxine est constituée de cycles bifurane coumarine-lactone/cyclopentanone.

Les aflatoxines du type G possèdent un cycle lactone, tandis que celles du type B ont un cyclopentanone. Chaque type d'aflatoxines est subdivisé en deux groupes (1 et 2) ; les aflatoxines du groupe 1, à la différence de celles du groupe 2, sont caractérisées par la présence d'une double liaison en C8,9 du premier anneau furane

. Les aflatoxines du type M possèdent un anneau Partie bibliographique 22 cyclopentanone comme celles du type B, mais sont hydroxylées en C10 (Schmidt et Esser., 1985).

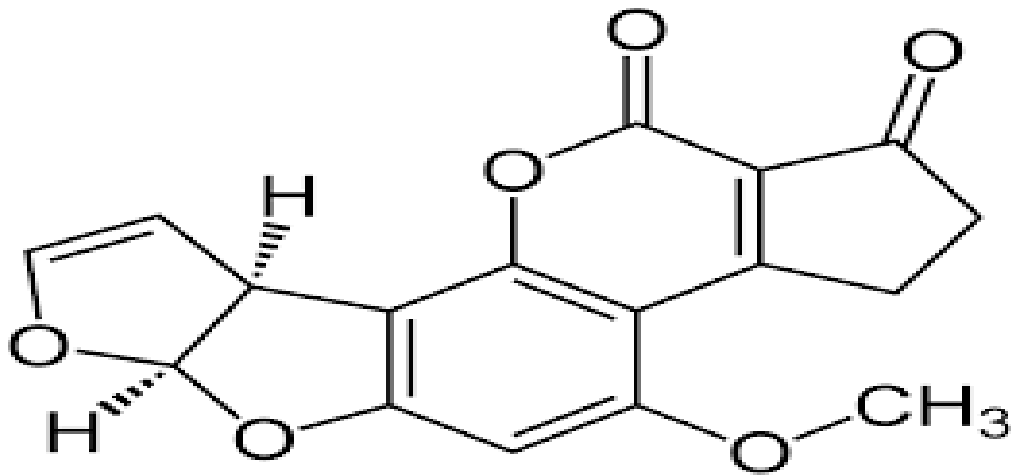


Figure 1: structure d'aflatoxine.

II.1.2 Propriétés physico-chimiques

Les Aflatoxines sont des molécules de faibles poids moléculaires (312 à 330 g/mol).

Elles sont très peu solubles dans l'eau (10 à 30 µg/ml), insolubles dans les solvants non polaires et très solubles dans les solvants polaires comme le chloroforme et le méthanol. Sous lumière UV, les Aflatoxines B émettent de manière intense une fluorescence bleue, tandis que les Aflatoxines G émettent une fluorescence verte (Asao T, Buchi G, Abdelkader M.M,) Ces couleurs sont d'ailleurs à l'origine de leurs dénominations : « B » pour Blue et « G » pour Green.

Le « M » provient quant à lui du nom de l'aliment à partir duquel les Aflatoxines M ont été extraites pour la première fois : « M » pour Milk. Les pH extrêmes, supérieurs à 10 et inférieurs à 3, entraînent une instabilité de ces structures, également sensibles aux agents oxydants. La température minimale de décomposition s'élève à 237°C. Cette température peut atteindre 299°C pour les structures les plus thermostables telles que les Aflatoxines M (Pfohl-Leskowicz A). Cette propriété les rend particulièrement résistantes aux traitements thermiques comme la congélation, la pasteurisation ou encore la stérilisation.

II.1.3 Moisissures productrices d'aflatoxines

Les AF sont produites principalement par trois espèces appartenant au genre *Aspergillus* : *A. flavus*, *A. nomius* et *A. parasiticus* (Castegnaro M, Pfohl-Leszkowicz A). *Aspergillus flavus* produit essentiellement les Aflatoxines du groupe B tandis qu'*Aspergillus parasiticus* sécrète les quatre Aflatoxines principales appartenant aux groupes B et G (Brochard G, Le Bacle C. septembre 2009).

Ce sont des espèces fréquemment retrouvées dans les zones chaudes et humides. Elles ont été mises en évidence dans les denrées alimentaires telles que les noix (arachides, pistaches, noisettes...), les grains (maïs, millet, sorgho...), le coton, les épices ainsi que le lait (: Dorner J.W, Cole R.J, Diener U.L.)

La prolifération fongique et la production d'AF ont lieu au champ et au moment du stockage. La contamination par la moisissure et la toxinogénèse sont facilitées par les mauvaises conditions de stockage, de transport et d'hygiène. En effet, l'humidité excessive, la sécheresse, les températures élevées sont autant de facteurs facilitant la croissance fongique et la toxinogénèse (Pfohl-Leszkowicz A. Les mycotoxines dans l'alimentation).

Les conditions optimales de croissance et de production d'AF nécessitent une activité en eau faible, de l'ordre de 0,84 à 0,86, ainsi qu'une température comprise entre 25 et 40°C. Par ailleurs, une contamination conjointe avec une autre mycotoxine peut avoir un effet amplificateur sur la production d'une des toxines. C'est le cas de la production d'Aflatoxines si le substrat est déjà contaminé par des Fumonisine

II.2 Les ochratoxines :

La principale ochratoxine est l'ochratoxine A (OTA), on la trouve dans certaines régions tempérées (Europe Occidentale, Canada, certaines zones d'Amérique du Sud) ,elle a été isolée pour la première en 1969 par des chercheurs sud-africains à partir de souches d'*Aspergillus ochraceus*, Elle a par la suite été

identifiée dans les conditions naturelles, aux USA, en 1969, dans un échantillon de maïs [Weidenburner, 2001] puis dans l'ensemble des pays du monde

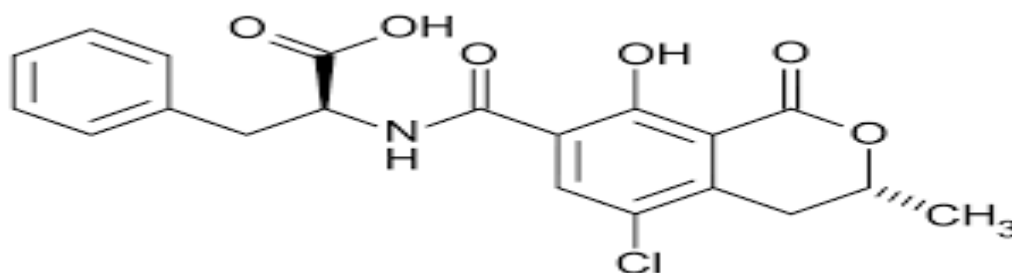


Figure 2: structure de l'ochratoxines

II.2.1 Propriétés physico-chimiques

L'OTA est un acide organique faible de pKa égal à 7,1. C'est un solide cristallin blanc ayant une masse molaire de 403,8 g/mol. A pH neutres et acides, l'OTA est soluble dans les solvants organiques polaires et très peu soluble dans les solutions aqueuses.

A pH basiques, elle est soluble dans les solutions aqueuses de bicarbonate de sodium, et de manière générale dans les solutions aqueuses alcalines.

Son point de fusion est de 90°C lorsqu'elle est sous forme cristallisée dans le benzène, et de 169°C lorsqu'elle est cristallisée dans le xylène.

L'OTA présente une fluorescence importante sous ultraviolets : de couleur verte en milieu acide, et bleue en milieu alcalin.

Cette fluorescence est à l'origine des méthodes de détection et de dosage de l'Ochratoxine A (AZMER2000).

En raison de la stabilité de sa structure chimique, l'OTA résiste aisément aux procédés industriels de transformation. Elle est dégradée partiellement dans des conditions normales de cuisson mais est totalement détruite par des solutions d'hypochlorite de sodium, NaCl (Castegnaro et al), 1991]

D'autre part, l'Ochratoxine A est instable à la lumière et à l'air ; elle se dégrade rapidement après une courte exposition à la lumière et à l'humidité.

II.2.2 Moisissures productrices d'OTA

Il existe une vingtaine de micromycètes capables de produire de l'Ochratoxine A. *Aspergillus ochraceus* et *Penicillium verrucosum* sont les deux principales espèces productrices d'OTA.

Penicillium verrucosum et *Aspergillus carbonarius* sont plutôt retrouvés sous les climats froids et tempérés tandis qu'*Aspergillus ochraceus* croît préférentiellement dans les régions chaudes et tropicales.

Ce sont des moisissures connues pour se développer de préférence sur les oléagineux et les céréales comme le maïs, le blé, le seigle, l'orge et l'avoine. Mais elles peuvent contaminer toutes sortes de denrées alimentaires telles que les abats, les viandes, le cacao, les fruits secs, le lait de vache, les farines... L'OTA est parfois présente en quantité importante dans le café, car elle résiste très bien à la torréfaction qui soumet les grains de café à une très forte chaleur pendant une courte période

II.3 La Patuline

Après la découverte de la pénicilline, de nombreux sondages moléculaires autour des champignons filamenteux ont mis en évidence une nouvelle molécule. (Waksman and Horning, 1943) Celle-ci a eu plusieurs noms dont clavacine, expansine puis patuline. Ces propriétés antibiotiques l'ont rendu célèbre peu de temps puisqu'elles étaient contre balancées par sa toxicité importante. (Katzman et al. 1944). Elle fût, tout de même, largement utilisée contre *Brucella abortus*.

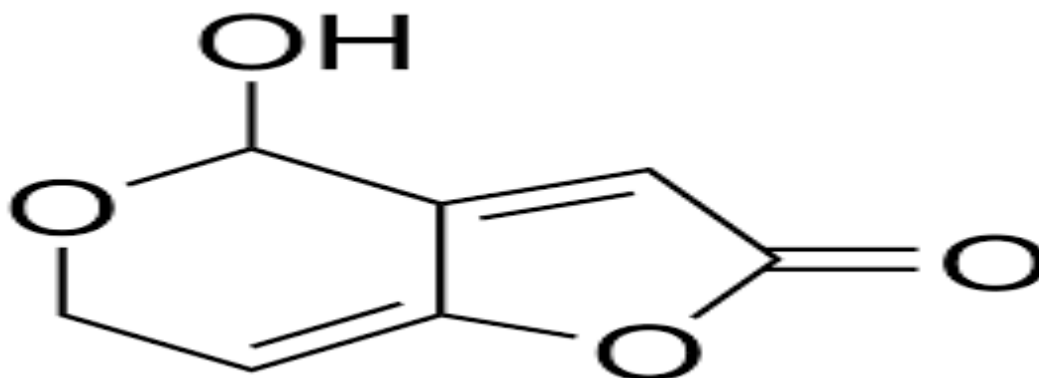


Figure 3: structure de la patuline

II.3.1 Propriétés physico chimique

La patuline est un contaminant chimique hautement toxique. La 4-hydroxy-4H-furo [3,2c] pyran-2(6H) one est son nom chimique suivant la nomenclature de l'Union internationale de la chimie pure et appliquée (UICPA)(Khorrami and Taherkhani 2011).

Il s'agit d'une lactone insaturée, de petite taille, de formule empirique C₇H₆O₄, avec une masse moléculaire de 154,12 (Singh 1967). Une structure chimique de la patuline a été proposée par Raistrick (1943), ensuite sa structure prouvée, la patuline a été synthétisée par Woodward et Singh (1950).

La patuline forme des cristaux incolores à section losangique ou prismatique et présente un point de fusion de 111°C (Trucksess and Tang 1999; Ionescu et al. 2010). Son maximum d'absorbance (λ max) se situe à 275 nm. C'est une substance neutre, soluble dans l'eau et la plupart des solvants organiques tels que l'éthanol, le méthanol, l'acétone, l'acétate d'éthyle, l'éther et le chloroforme, par contre totalement insoluble dans les pentanes-hexanes comme le benzène ou l'éther de pétrole (Ciegler 1977). Etant donné que la patuline est un composé soluble dans l'eau et de faible poids moléculaire, elle est potentiellement capable de diffuser de la partie pourrie du fruit vers les parties visiblement saines (Bandoh et al. 2009). Elle est stable en milieu acide quel que soit la température, par contre elle devient instable et perd son activité en milieu alcalin (Brackett and Marth 1979).

II.3.2 Moisissure productrices de patuline

La patuline est élaborée comme métabolite secondaire par une large variété de micromycètes qui a été estimée sur la base d'une analyse bibliographique à plus de 60 espèces fongiques (Moake et al. 2005) appartenant particulièrement aux genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Byssochlamys* et *Paecilomyces*. Il est aujourd'hui admis que seules les espèces de ces quatre genres produisent la patuline. Parmi ces derniers, le genre *Penicillium* s'est avéré le producteur majeur de patuline, dont l'espèce *P. expansum* est la plus souvent associée à l'occurrence de cette mycotoxine et par conséquent la plus inquiétante à l'égard de la santé publique et de l'économie (Morales et al. 2008b).

II.4 Zéaralénone

Zéaralénone a été isolée pour la première fois en 1962 à partir de maïs contaminé par *Gibberella zeae*. Sa structure fut élucidée en 1966 (STOB M., BALDWIN R.S., TUTE J., ANDREWS F.N. et GILL), sa synthèse totale et la détermination de sa configuration absolue étant réalisées en 1968 (TAUB D., GIROTRA N.N., HOFFSOMMER R.D., KUO C.H., SLATES H.L., WEBER S. et WENDLER N.L).

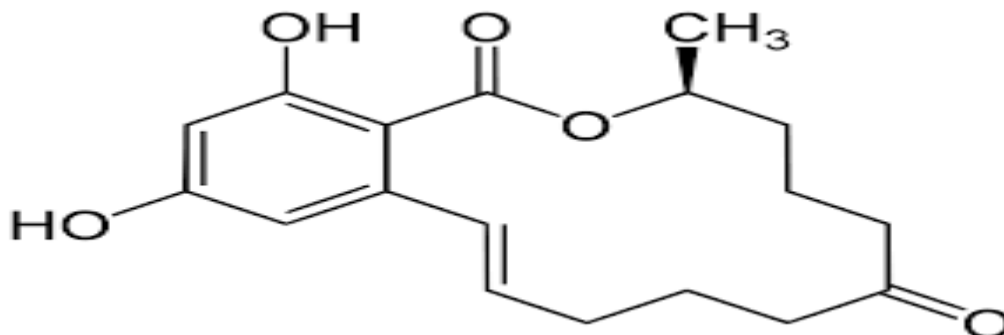


Figure 4: la structure de la zéaralénone

II.4.1 PROPRIÉTÉS PHYSIQUES ET CHIMIQUES

La zéaralénone pure se présente sous forme de cristaux blancs [60]. Son poids moléculaire est de 318 g/mol. Son point de fusion est de l'ordre de 164-165° C. Elle a un coefficient rotatoire $[\alpha]_{546} = -170.5^\circ$.

Ce composé absorbe la lumière ultraviolette (UV), les longueurs d'onde des maxima d'absorption et les coefficients d'extinction molaires respectifs sont de 236 nm ($\epsilon=29,700$), 274 nm ($\epsilon=13,909$), 316 nm ($\epsilon=6,020$) La zéaralénone est également fluorescente. Elle apparaît d'une couleur bleu-vert lorsqu'elle est excitée par des longueurs d'onde élevées (360 nm), et d'un vert plus intense avec des longueurs d'onde plus faibles (260 nm).

Le maximum de fluorescence dans l'alcool éthylique est observé pour une longueur d'onde d'environ 314 nm, avec une émission à 450 nm. Cette propriété est utilisée en chromatographie pour le dosage de la zéaralénone et de ses dérivés. La nature de lactone macrocyclique explique la très faible hydrosolubilité de la zéaralénone, ses substituants (alcools et cétones) expliquent sa très faible solubilité dans les solvants apolaires tels que

l'hexane.

La zéaralénone présente donc une solubilité maximale dans les alcools et solvants de polarité intermédiaire (dichlorométhane, acétone).

II.4.2 Moisissures productrices – Toxinogène

La ZEA est principalement produite par des moisissures du genre *Fusarium*, et particulièrement par *Fusarium graminearum*, la forme anamorphe de *Gibberella zeae* (Stob M, Baldwin R.S, Tuite J, et al).

D'autres espèces sont aussi capables de la synthétiser, c'est le cas de *F. semitectum*, *F. equiseti*, *F. crookwellense* et *F. culmorum* (IARC. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to HumansII) a été montré que, dans des conditions d'humidité importante, *Aspergillus oryzae*, *A. parasiticus* et *A. versicolor* étaient également capables de synthétiser de la ZEA (Atalla M.M, Hassanein N.M, El-Beih A.A, et al). Les moisissures productrices de ZEA infectent le plus souvent les céréales avant la récolte, notamment lors de la floraison.

La croissance fongique et la toxinogène peuvent aussi se produire dans des conditions médiocres de stockage. Les *Fusaria* sont omniprésentes sur le Globe. on les retrouve surtout dans les zones climatiques tempérées et chaudes (Japon, États-Unis, Amérique du Sud, Océanie...).

Elles contaminent de préférence les céréales comme le blé, l'avoine, l'orge, le riz et le maïs, mais aussi les cultures maraîchères et fruitières. Par ailleurs, il n'est pas rare de rencontrer dans les denrées contaminées par la ZEA des Trichothécènes (Déoxynivalénol) également produites par le genre *Fusarium*

II.5 Fumonisines

Les fumonisines est constitué d'une quinzaine de molécules différentes, réparties en 4 groupes : les Fumonisines A, B, C et P. Elles ont été identifiées assez tardivement en 1988 (Bezuidenhout S.C, Gelderblom W.C.A, Gorst-Allman C.P, et al). Elles sont souvent à l'origine d'atteintes du système nerveux chez les équidés consommant de l'avoine et du maïs contaminés par des moisissures du genre *Fusarium*. Ce groupe de toxines fait partie des

Fusariotoxines, toxines produites par *Fusarium* spp. Les Fumonisines les plus fréquemment rencontrées sont les Fumonisines du groupe B (FB).

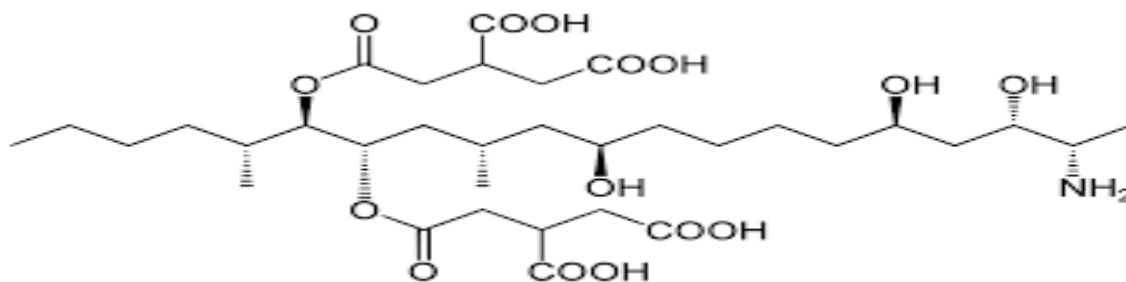


Figure 5: la structure des fuminiene.

II.5.1 Propriétés physico chimique

Les Fumonisines sont des solides amorphes, solubles dans l'eau et le méthanol, et insolubles dans les solvants non polaires. C'est la présence de fonctions carboxyliques (-COOH) dans leur structure qui leur confère une forte polarité et un pouvoir hydrophile. Les masses molaires sont de 722 g/mol pour la FB1 et de 706 g/mol pour la FB2. Leur point de fusion est assez bas, voisin de 105°C. Contrairement aux autres toxines déjà citées, les Fumonisines n'ont aucune propriété fluorescente. Comme elles n'absorbent pas les ultraviolets, leur détection est compliquée. Leur étude passe donc par la formation contrôlée de dérivés détectables, jouant le rôle de biomarqueurs. Bien que les procédés mettant en œuvre de fortes températures (friture et cuisson au four) permettent leur destruction, les FB1 et FB2 sont relativement thermostables en milieu aqueux. Cette thermo stabilité leur permet de subsister dans les produits alimentaires transformés. Par ailleurs, la stabilité de la FB1 est fonction du pH : pour une température de 150°C, la destruction des Fumonisines est facilitée pour des pH proches de 10 ou des pH inférieurs à 4. Mais c'est pour des pH neutres que la structure des Fumonisines est la plus stable.

II.5.2 Moisissures productrices des fuminiens

Les Fumonisines sont des mycotoxines uniquement produites par des micromycètes du genre *Fusarium*, les deux espèces les plus actives étant *Fusarium proliferatum* et *Fusarium moniliforme* (aussi nommé *Fusarium verticillioides*). Cette dernière est une moisissure endophyte, c'est-à-dire qu'elle peut coloniser une plante sans que celle-ci ne développe de signes visibles. Un

plant peut donc être contaminé et pourtant paraître sain. 48 Le genre *Fusarium* infeste feuilles, grains et racines. C'est un parasite courant des végétaux et plus particulièrement du maïs. De plus, c'est une espèce cosmopolite adaptée aussi bien aux climats tempérés qu'aux régions chaudes et humides. Elle est un peu moins présente dans les régions froides.

II.6 Alcaloïdes de l'ergot du seigle

Le terme « alcaloïde » désigne, de manière générique, un ensemble de molécules azotées et le plus souvent hétérocycliques. Elles proviennent majoritairement du métabolisme des végétaux et des champignons. Ce sont des métabolites secondaires issus de la voie des acides aminés. Les alcaloïdes de l'ergot forment un groupe qui comprend une quarantaine de molécules, toutes isolées de sclérotés de champignon du genre *Claviceps*. Leur puissante activité pharmacologique leur vaut d'être largement utilisées en médecine. Certains sont analgésiques ou antimigraineux quand d'autres sont hypertenseurs.

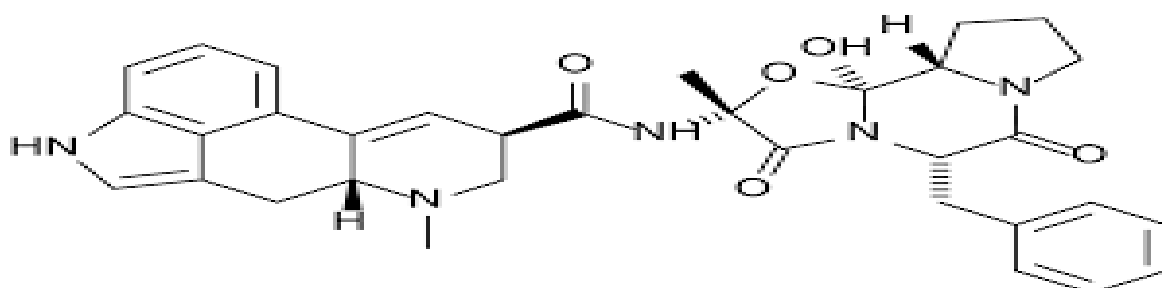


Figure 6: les alcaloïdes de l'ergot

II.6.1 Propriétés physico-chimiques

De manière générale, les alcaloïdes de l'ergot se présentent sous la forme de cristaux incolores, peu solubles (voire insolubles) en solution aqueuse, et très solubles dans divers solvants organiques. Ils sont pour la plupart capables de capter un proton (ion H^+), ils ont donc des propriétés alcalines. Leur structure est très instable lorsqu'elle est soumise aux UV et à la chaleur (cuisson). Par ailleurs, les alcaloïdes sont très sensibles à l'oxydation photolytique c'est-à-dire petites qu'ils subissent une décomposition sous l'effet de la lumière. Ce sont de molécules dont les masses molaires varient de 100 à 900 g/mol.

II.6.2 Moisissures productrices

Le principal producteur d'alcaloïdes de l'ergot est *Claviceps purpurea*. L'ergot est le nom donné aux formes de résistance du genre *Claviceps*, les sclérotés. D'autres espèces appartenant à ce genre sont capables de produire des alcaloïdes : c'est notamment le cas de *Claviceps paspali*, *C. africana* et *C. fusiformis* (70, 76). *C. purpurea* produit principalement des Ergopeptines, *C. africana* des Clavines, et *C. paspali* est capable de produire à la fois des Clavines et des toxines trémorgènes (76). Mais les *Claviceps* spp ne sont pas les seuls champignons producteurs d'alcaloïdes ; il a été observé qu'*Aspergillus fumigatus* était aussi en mesure de produire des alcaloïdes de l'ergot tels que les Fumigaclavines A, B, C et a.

II.7 Les trichothécènes :

Les trichothécènes (TCT) sont divisées en quatre groupes : A, B, C et D (Unéo, 1977). Les groupes intéressants particulièrement les vétérinaires sont les groupes A et B. Les toxines appartenant à ces groupes sont les plus fréquemment retrouvées dans les denrées alimentaires. L'exposition aux TCT des groupes C et D est plus fréquente par voies cutanée et respiratoire. On pense aux stachybotryotoxines formées par *Stachybotrys chartarum* qui sont particulièrement toxiques pour les équidés et que l'on peut retrouver dans le foin. On trouve dans le groupe A la toxine T-2, la toxine HT-2 et le diacétoxyscirpénol (DAS) et dans le groupe B le nivalénol, le déoxynivalénol (DON) et la fusarénone-X. Appelé « the yellow rain » la mycotoxine T-2 était probablement utilisée comme arme chimique pendant la période de la guerre froide. (Jonathan Tucker, 2001 ; RW Wannemacher and SL Wiener, 1997).

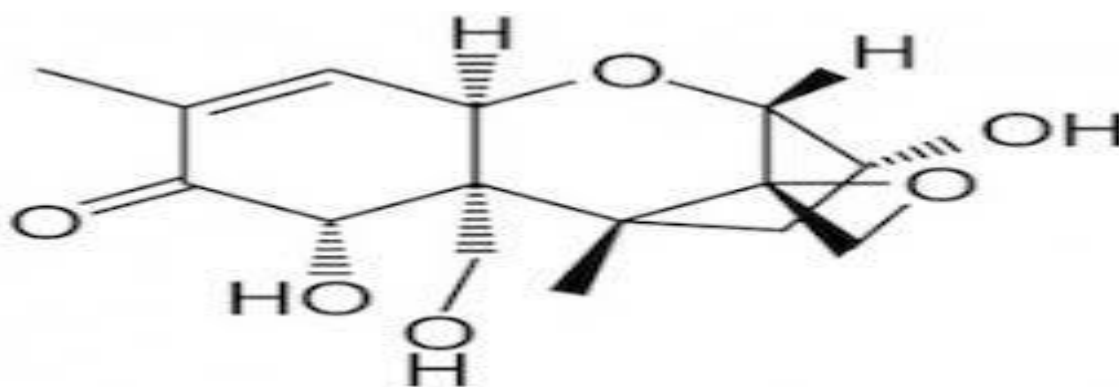


Figure 7: les trichotécènes

II.7.1 Moisissures productrices :

Les TCT sont principalement produites par des champignons du genre *Fusarium*. On peut citer parmi les plus importantes *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. langsethiae*, *F. tricinctum*, *F. sporotrichioides*, *F. poae*, *F. solani* ou *F. equiseti* (Thrane et al., 2004 ; Marasas WFO, 1991 ; Pettersson H and al, 1995)

CHAPITRE 02 :

EFFET ET DEVENIR DES MYCOTOXINES CHEZ LES
RUMINANTS

III Effets et devenir des mycotoxines chez les ruminants:

Les ruminants sont globalement plus résistants à la plupart des mycotoxines que les animaux monogastriques. Ce phénomène s'explique par le rôle détoxifiant de la population microbienne du rumen (sauf cas des aflatoxines : celles-ci provoquent des signes importants de lésions du foie. L'aflatoxicose entraîne une accumulation d'acides gras dans le foie, les reins et le cœur. La mort de l'animal peut survenir en quelques heures ou quelques jours). Dans le cas le plus fréquent de toxicose chronique, le foie reste la principale cible. La surcharge du foie engendre fréquemment des problèmes au niveau du métabolisme et un affaiblissement des défenses immunitaires, de sorte que des infections surviennent plus facilement.

III.1 Le métabolisme des mycotoxines chez les ruminants :

Une fois ingérée, les mycotoxines sont transformées d'abord dans le rumen puis dans d'autres organes comme le foie. Il en résulte une modification de la structure et de la toxicité des toxines fongiques qui confère généralement aux ruminants une plus grande résistance aux effets néfastes de la plupart des mycotoxines par rapport aux animaux monogastriques (AFSSA, 2009).

III.1.1 Dans le rumen :

Outre l'effet de dilution dans le rumen des ruminants due à une forte production de sécrétions salivaires, la flore microbienne joue un rôle détoxifiant en dégradant certaines mycotoxines. C'est le cas par exemple des toxines T-2, HT-2, DON et DAS qui sont toutes dégradées lorsqu'elles sont administrées à des doses de 10µg/ml. (Upadhaya *et al.* 2010).

Les bioconversions sont parfois multiples (tableau 2):

- Le DAS est dé-acétylé en MAS (monoacétoscirpénol) et scirpénetriol puis en dé-époxy MAS et dé-époxy scirpénetriol. Ces composés ont une toxicité comparable à celle de la molécule mère.

- La toxine T-2 est transformée en HT-2 et en néosolaniol qui sont detoxicité équivalente pour la HT-2 et 10 fois moins importante pour lenéosolaniol.
- Le DON est transformé en dé-époxyDON (généralement appelé leDOM-1) qui est de toxicité inférieure.
- L'OTA est dégradée dans le rumen en phénylalanine et enochratoxine alpha non toxique. Cependant elle peut également être estérifiée en ochratoxine C de toxicité similaire (Yiannikouris et jouany,2002).
- La ZEA est à 90% métabolisée en alpha-zéaralénol dont le pouvoir toxiques est 10 fois plus important que la molécule mère et dans une moindre mesure en bêta-zéaralénol une entité peu toxique (Pruild, 2007).
- Les aflatoxines sont généralement peu dégradées dans le rumen des Bovins (<10% pour des doses de 1 à 10µg/ml). La formation d'aflatoxicol (dérivé hydroxylé de l'aflatoxine B1) qui est de toxicité élevée a été montrée. En effet, 10µg/ml d'AFB1 inhibe de nombreuses bactéries ruminales. De ce fait, il semblerait que cette toxine perturbe le fonctionnement et la croissance de la flore durumen (Auerbach et al, 1998).
- Les fumonisines ne sont pas dégradées par la microflore du rumenmais passent directement dans l'intestin et les fèces (Pfohl, 1999).

Mycotoxine	Résultat de la transformation dans le rumen	Toxicité par rapport à la toxine initiale
DAS	Dé-époxy Dé-epoxyscirpènetriol	Idem

T-2	HT-2 néosonaniol	Idem 10 fois moins
DON	DON-1	Moins
OTA	Phénylalanine Ochratoxine alpha Ochratoxine c	Non toxique Idem
ZEA	90 % d'alphazéaralérol 10% de bêta zéaralérol	10 fois plus Idem
AFB	afltoxicol	Elevée

Tableau 2:le devenir des différentes mycotoxines dans le rumen des bovins (FANGEAT ,2008).

Il est important de noter que ce rôle de détoxifiant du rumen peut être perturbé par un déséquilibre de la flore ruminale. En effet, on sait que les micro-organismes du rumen (protozoaires, bactéries) sont sensibles aux variations physico-chimiques du contenu ruminal et notamment au pH. C'est pour cette raison qu'une alimentation déséquilibrée, composée essentiellement de concentrés en favorisant un état de sub-acidose augmente la toxicité des mycotoxines.

III.1.2 Dans l'intestin, le foie et les reins :

L'épithélium intestinal, le foie et les reins sont des organes où ont lieu d'importantes biotransformations et notamment des mycotoxines (Guerre et al, 2000). Selon Galtier, 1999 ces transformations se font en deux phases (figure 8 exemple de l'aflatoxine B1):

- **La première phase :** fait intervenir des réactions de réduction, d'oxydation et d'hydrolyse. Les réactions d'oxydations sont régies par différentes enzymes comme les cytochromes P450 microsomaux, les monooxygénases, des synthases de prostaglandines, des amines-oxydases et des alcool-deshydrogénases. Quant aux réactions de

réductionnelles font intervenir des époxyde-hydrolases et des aldéhyderéductases ou cétone-réductases.

- **La deuxième phase :** est représentée par des conjugaisons des molécules formées lors de la 1ère phase. Ces conjugaisons font intervenir des glucuronosyltransférases microsomales et des sulfonyl-, méthyl-, aminoacyl-, S-glutathione- et N-acétyl-transférases cytosoliques.

Ces biotransformations hépatiques, rénales ou intestinales diminuent la toxicité des mycotoxines et en permettant d'augmenter la solubilité des toxines, facilitent leur excrétion dans les urines (et dans le lait). De ce fait, elles participent à la défense de l'organisme tout comme la flore ruminale.

- L'OTA est bioconvertie par le cytochrome P450 des microsomes hépatiques en hydroxy-ochratoxine A (OH-OTA) ayant les mêmes propriétés immunosuppressives que la molécule mère.
- Les trichothécènes sont détoxifiés principalement par une réaction de glucuronidation et une réduction du groupement époxy responsable de la réactivité de ces métabolites.
 - La toxine T-2 est dé-acétylée en HT-2 et en T-2 triol en moindre proportion. Ces métabolites sont ensuite conjugués à l'acide glucuronique permettant leur excrétion dans la bile. D'autres métabolites peuvent être formés comme la OHHT-2, la diOH-HT-2, la dé-époxy T-2 ou la dé-époxy T-2 triol.
 - La DAS est métabolisée en produits dé-époxylés et déacétylés.
 - Le DON est transformé en DOM-1 puis une glucuronidation augmente son hydrophilie et de ce fait, son excrétion hors de l'organisme de l'animal.
- Les aflatoxines B1 peuvent être hydrolysées partiellement par des

Hydrolases du foie ou des enzymes intestinales en monoester et aminopentol qui peuvent alors être excrétés dans les fèces mais aussi en aflatoxine M1 qui peut être excrétée par voie lactée.

D'autres métabolites, issus de la dégradation hépatique, comme l'aflatoxine P, Q1 ou B2 sont facilement excrétés après conjugaison avec des nucléophiles solubles.

- La ZEA quant à elle subit 2 transformations successives dans le foie qui sont :
 - Une hydroxylation en alpha et bêta-zéaralénol. Cette bioconversion est régie par les enzymes 3 α - et 3 β -HSDs (hydroxysteroiddéshydrogénases).
 - Une glucuronidation par l'intermédiaire de la UDPGT (uridinediphosphateglucuronyl transférase) une enzyme du réticulum endoplasmique. Cette conjugaison avec les acides glucuronique facilite l'élimination de la toxine et de ces métabolites.

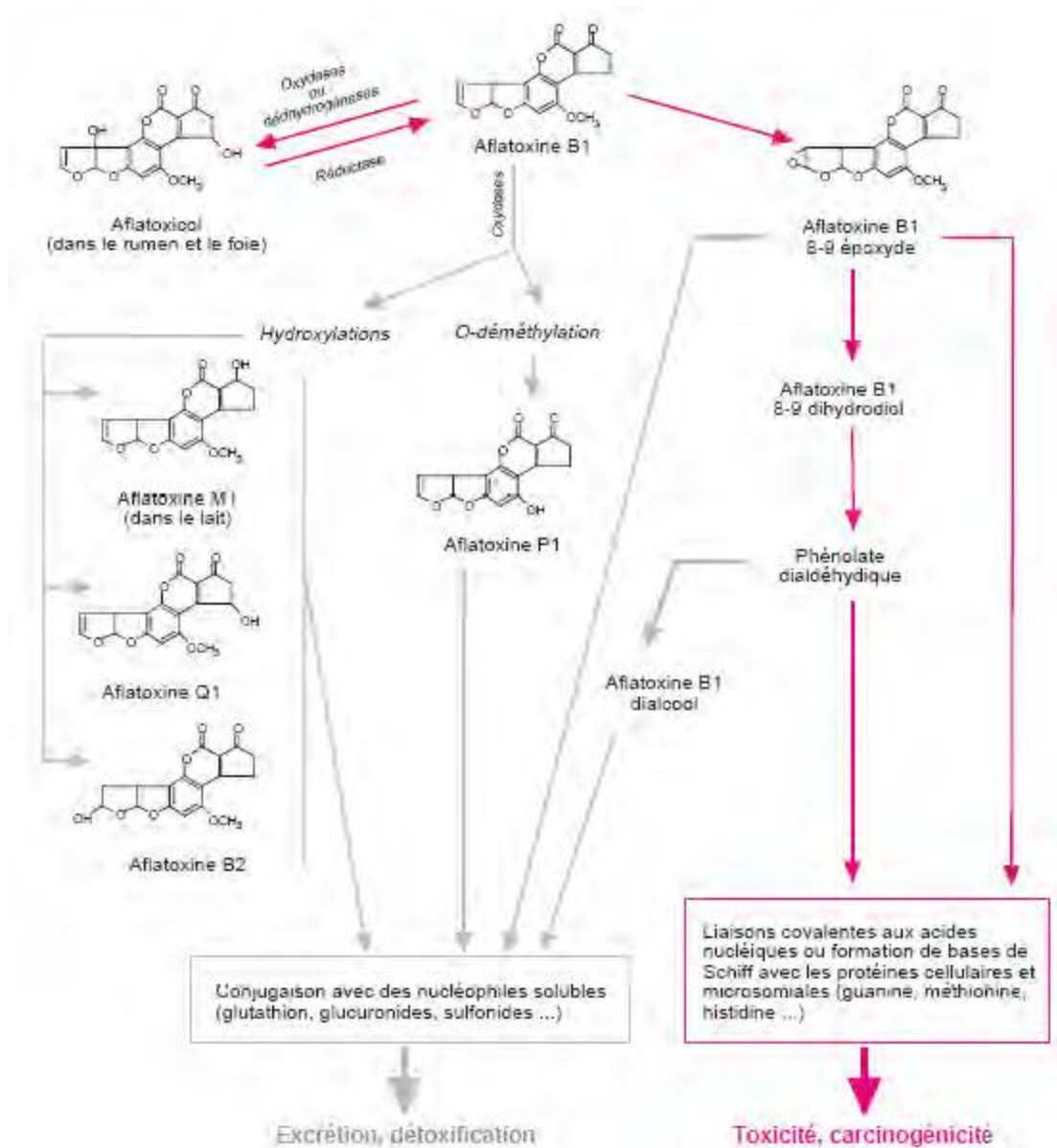


Figure 8: Métabolisme de l'aflatoxine B1 dans le foie (Yiannokouris et Jouany ,2002)

III.2 Les effets sur la santé des ruminants :

Même si la plupart des mycotoxines sont dégradées dans le système digestif des ruminants, des effets néfastes dus aux toxines fongiques sont parfois observés dans les élevages. Ces effets biologiques dépendent de différents facteurs (Yiannikouris et Jouany, 2002) :

- _ La dose de mycotoxines ingérée.
- _ Le nombre de toxines présentes puisque il existe des synergies entre différents types de mycotoxines.
- _ La durée d'exposition aux mycotoxines puisque les toxines fongiques sont responsables entre autres de troubles chroniques.
- _ L'état de santé de l'animal qui les ingère. En effet, les bioconversions qui protègent les ruminants d'une partie des effets toxiques des toxines fongiques dépendent de la bonne santé de la flore ruminale en particulier, ce qui implique que l'animal doit être en bon état général.

III.2.1 Les effets généraux des mycotoxines :

Les effets généraux ont trait à une diminution de l'efficacité du système immunitaire entraînant une sensibilité accrue aux maladies et infections, des problèmes de reproduction et une baisse générale dans les performances zootechniques. Plus spécifiquement, *Charmley et Trenholm (2000)* dans leur revue sur le sujet rapportent des baisses de consommation, des baisses de fertilité, des intoxications manifestées au niveau des reins, du foie, des poumons et des tissus neurologiques. Dans des cas extrêmes, certaines toxines conduisent à une augmentation de la mortalité, alors que l'effet cancérigène de d'autres toxines est également documenté. En effet, certaines toxines sont cancérigènes, l'aflatoxine B1 (AFB1) l'est certainement.

III.2.2 Les effets spécifiques des mycotoxines :

III.2.2.1 Aflatoxine :

Ce sont des mycotoxines extrêmement toxiques, mutagènes et cancérigènes, l'AFB1 est peu ou pas bioconvertie par les microorganismes du rumen.

Bien qu'il existe une variabilité dans la sensibilité des différentes espèces de ruminants aux aflatoxines, les effets toxiques généraux se manifestent au niveau zootechnique par une diminution des quantités ingérées et une

diminution significative de la production animale. L'altération des fonctions hépatiques est semblable à celle observée chez les animaux monogastriques. Les effets immunosuppresseurs des aflatoxines rendent les animaux plus sensibles aux infections et diminuent la résistance acquise par la vaccination. Des signes cliniques d'intoxication apparaissent après l'ingestion de plus de 50 mg/kg d'aliment chez les petits ruminants. L'AESA rapporte que la dose de 0,020 mg d'AFB1/kg d'aliment n'a aucun effet sur la santé des ruminants. Toutefois, l'Autorité précise qu'une exposition longue à des concentrations faibles d'AFB1 qui correspond à la situation la plus fréquente sur le terrain, peut conduire à des fibroses hépatiques et des tumeurs du foie. Ces conditions ont été à l'origine de la formation de carcinomes hépatiques chez des moutons élevés en dehors de la zone européenne.

III.2.2.2 Les ochratoxines :

Dans les conditions naturelles, les manifestations cliniques liées à l'intoxication par l'ochratoxine sont voisines dans la plupart des espèces affectées, cependant les animaux diffèrent par leur sensibilité à la mycotoxine.

Chez les ruminants, les niveaux de contamination naturels ne suffisent pas à l'expression de signes cliniques évocateurs, les ruminants semblent plus résistants que les autres espèces aux effets de la toxine car celle-ci est dégradée par la microflore ruminale [Ozpinara et al. 1999]. Ainsi les ruminants n'expriment pas l'ochratoxicose à moins d'être exposés à de très hauts niveaux d'OTA, auquel cas le tableau clinique est marqué par une urémie, des hépatites, des ulcères gastro-intestinaux et des pneumonies [Humphreys, 1988].

III.2.2.3 La patuline :

La patuline a des pouvoirs carcinogène et mutagène. Les signes cliniques pouvant être observés sont des syndromes nerveux. Chez les ruminants notamment c'est une paralysie des réservoirs gastriques qui est à l'origine des troubles de l'ingestion et de la digestion. Ces troubles ont des effets néfastes

sur la croissance. A l'échelle moléculaire, il semblerait que la patuline agisse en altérant la perméabilité ionique et/ou la communication intracellulaire. Ceci engendrerait un stress oxydatif et la mort cellulaire. De plus, la patuline possède des propriétés antibiotiques qui pourrait perturber la flore ruminale.. (Riley, 1998) (Yiannikouris et Jouany , 2002)

Une intoxication aiguë caractérisée par une perte d'appétit, une perte de rumination, une augmentation du taux d'azote uréique du sang et un abaissement de la concentration des protéines plasmatiques, a été observée chez les ovins recevant des doses orales de patuline aussi élevées que 50l mg/kg de poids corporel (Tapia et al. 2006).

III.2.2.4 La zéaralénone :

La ZEA est responsable d'une réponse oestrogénique chez les ruminants entraînant des troubles de la reproduction et des modifications physiques des organes génitaux diverses(Yiannikouris et Jouany , 2002) tels que : Œdèmes et hypertrophie des organes génitaux des femelles pré pubères, Diminution du taux de survie de l'embryon chez les femelles en gestation, diminution des quantités de LH et de progestérone produites engendrant une diminution de production laitière et des troubles de la morphologie des tissus utérins, féminisation des jeunes mâles par diminution de la production de testostérone . Ces problèmes peuvent aller jusqu'à l'infertilité chez les moutons. Les ovins sont plus sensibles que les bovins.

III.2.2.5 Fumonisines :

Les fumonisines, en particulier la fumonisine B1, possèdent des pouvoirs toxiques variés : neurologiques (principalement chez les équidés), hépatologiques et pulmonaires .Même si il semblerait que la FB1 (fumonisine B1) est moins toxique chez les ruminants que chez les monogastriques, il est maintenant prouvé que cette toxine fongique engendre également des effets néfastes sur les troupeaux bovins ou chez les petits ruminants(Kriek et al, 1981),de fait de la FB1 est peu ou pas biotransformée par les microorganismes du rumen. Des différences de sensibilité difficiles à expliquer existent entre

espèces de ruminants ou types de production. Les ovins seraient particulièrement sensibles à la FB1. Des troubles de la fonction hépatique (dès 150 mg/kg d'aliment). Les rares mesures effectuées montrent que les taux de transfert des fumonisines dans le lait sont nuls ou faibles (0,05 %). Il n'y a donc pas de risque avéré des fumonisines pour le consommateur de produits laitiers issus des ruminants.

III.2.2.6 Alcaloïdes de l'ergot de seigle :

L'intoxication à l'ergot est connue depuis longtemps chez de nombreuses espèces animales (bovins, caprins, ovins, chevaux, chien, porcins et oiseaux) mais aussi chez l'Homme.

La réponse des animaux d'élevage n'est pas la même après l'ingestion de la même quantité d'ergot [Mainka et al., 2005]. Selon les études disponibles, différentes doses toxiques sont proposées, cependant l'EFSA (Autorité Européenne de sécurité des aliments) conclut que les études sont trop peu nombreuses et incomplètes pour pouvoir établir un seuil de tolérance. Les valeurs sont variables selon les études : 1mg d'ergotamine par mouton par jour entraîne la mort de l'animal [Lopez et al., 1997]. Dans l'étude de Loken (1984), des signes cliniques sont visibles dès 0,4% d'ergot dans la ration d'agneaux.

Deux formes, voire trois selon les auteurs, d'intoxication existent :

- La forme nerveuse, qui se manifeste plus souvent chez les carnivores, les chevaux et les ovins.
- La forme gangréneuse, qui est plus fréquente chez les bovins et qui se manifeste notamment par de la nécrose. Elle est aussi appelée la gangrène sèche des extrémités.
- Les troubles de la reproduction, particulièrement chez les mammifères herbivores (bovins, ovins) et les porcins.

Dans le tableau ci-dessous (Tableau 3), sont présentés les principaux symptômes de l'intoxication par de l'ergot chez les ovins. Les symptômes rencontrés chez les ovins sont proches de ceux des bovins. L'intoxication par

l'ergot est moins documentée que chez les bovins [Lopez et al., 1997 ; Greator et Mantle, 1973, Loken, 1984, Inge Vogt Engeland et al., 1998] .

Système touché	Symptômes
Appareil locomoteur	Boiterie(membres postérieur +++) Œdème de partie distale des membres
Appareil cardio-vasculaire	Dyspnée Tachycardie
Appareil digestif	Diminution de l'appétit – anorexie Nausées Ptyalisme++ Diarrhée Saignements dans le tube digestif
Comportement	Forme nerveuse Abattement Spasmes musculaires violents
Appareil reproducteur	Réduction du taux de gestation Avortement
Production	Diminution de la production laitière Diminution du gain de poids
Autres	Hyperthermie Intolérance à la chaleur

Tableau 3:tableau récapitulatif des symptômes de l'intoxication à l'ergot chez les ovins.

III.2.2.7 Trichothécènes :

La résistance des ruminants (ovins et bovins) aux trichothécènes explique le peu de références concernant ces espèces. Malgré une importance historique, les rapports d'intoxication de bovins par les trichothécènes sont parmi les plus anciens – les études ultérieures ont confirmé cette résistance naturelle. En conséquence, les DL50 n'ont pas été déterminées et les études sont rares [JECFA, 2001, WHO, 1990].

Les symptômes rapportés lors d'intoxication chronique par les trichothécènes sont une baisse de consommation alimentaire, voire un refus de consommer l'aliment, accompagné avec des doses élevées et/ou chez des animaux pré ruminants de troubles nerveux, neuromusculaires, et de l'émergence de pathologies opportunistes. Un refus partiel est observé chez des agneaux avec un aliment contaminé à hauteur de 5 mg/kg de DAS, entraînant une perte de poids [Harvey et al, 1994]. Ce refus partiel est transitoire et n'influence pas le poids lors d'administration à des bovins adultes d'un aliment contaminé par 6 mg/kg de DON [Trenholm et al, 1984, 1985].

Le refus total de l'aliment contaminé est observé pour un niveau de contamination de 50 mg/kg de toxine T-2, même lorsque celui-ci est additionné d'agents appétant. Il est intéressant de noter que par la suite, ces animaux vont refuser de consommer un aliment identique non contaminé, alors que le foin proposé est consommé.

Aucune baisse de consommation alimentaire n'est observée lors de l'administration de distribution d'aliment contaminé à hauteur de 15.6 mg/kg de DON à des agneaux.

Des troubles nerveux et neuro musculaires sont observés après administration de 6 mg/kg PV de toxine T-2 par intubation œsophagienne chez un veau pré ruminant : parésie postérieure, apathie puis dépression profonde, de durées croissantes avec les administrations successives [Weaver et al, 1980].

L'administration de 0.3-0.6 mg/kg PV de toxine T-2 par intubation œsophagienne à des agneaux n'entraîne aucun effet spécifique. Les animaux développent en revanche un ecthyma contagieux et des signes de coccidiose plus sévères, et avec une incidence supérieure [Friend et al., 1983].

CHAPITRE 03 :

MOYENS DE LUTÉ

IV Moyen de lutte :

Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, les récoltes contaminées par les mycotoxines représenteraient un quart de la production totale du Globe.

À l'heure où la production des denrées agricoles n'est pas suffisante pour subvenir aux besoins de l'ensemble de la population mondiale, le choix de la destruction des aliments contaminés n'est pas évident. La mise en œuvre de techniques industrielles de détoxification est donc essentielle pour maintenir au mieux l'approvisionnement mondial en produits alimentaires. Il n'existe pas de solution unique dans la lutte contre les mycotoxines. Il est important de prendre en compte diverses stratégies pour réduire et contrôler le taux de mycotoxines dans les produits agro-alimentaires. Le meilleur moyen pour éviter la contamination en toxines réside dans la prévention de l'apparition des moisissures lors des étapes précédant la transformation du produit alimentaire. L'apparition des champignons responsables de la production des mycotoxines se développent lorsque certaines conditions environnementales sont réunies : humidité suffisante, température optimale, composition gazeuse, composition du substrat (présence de carbone, azote et oxygène)... Les méthodes de lutte développées reposent principalement sur la modification des paramètres propices à la prolifération fongique, mais aussi sur le respect des bonnes pratiques de culture, récolte, entreposages

IV.1 Préventions des infections des aliments par les mycotoxines.

Selon le codex alimentaire de la Prévention et Réduction de la Contamination des Produits de Consommation Humaine et Animale les règles à suivre pour minimiser les infections fongiques et donc de ce fait la diminution de la production des mycotoxines sont

IV.1.1 Semis

Envisager la mise en place et le maintien d'un plan de rotation des cultures afin d'éviter de planter le même produit dans un champ durant deux années consécutives. Le blé et le maïs sont particulièrement sensibles à l'espèce

Fusarium et ne devraient pas être utilisés en rotation l'un après l'autre. Des végétaux comme les pommes de terre, d'autres légumes, le trèfle et la luzerne qui ne sont pas des hôtes de l'espèce Fusarium devraient être cultivés en rotation pour réduire l'inoculum en champ.

Quand cela est possible et pratique, préparer un lit de semences pour les nouvelles cultures en labourant dessous ou en détruisant ou en enlevant les vieilles têtes à semences, les tiges et autres débris qui pourraient avoir servi ou pourraient servir comme substrats pour le développement de champignons producteurs de mycotoxines. Dans les zones qui sont exposées à l'érosion, des systèmes de culture sans labour peuvent être requis à des fins de conservation des sols.

Utiliser les résultats des analyses pédologiques afin de déterminer s'il est nécessaire d'appliquer des fertilisants et/ou des amendements afin d'assurer un pH approprié des sols et une bonne nutrition des plantes, de façon à éviter à ces dernières le stress, notamment pendant la période de développement des semences.

Utiliser, quand il en existe, des variétés de semences sélectionnées pour leur résistance aux moisissures et aux insectes parasites. Seules les variétés de semences dont l'emploi est recommandé dans une zone particulière d'un pays devraient être plantées dans cette zone.

Dans la mesure du possible, procéder aux semis de façon à éviter les températures élevées et la sécheresse pendant la période correspondant au développement ou à la maturation des semences.

Eviter les plantations trop rapprochées en respectant les espacements recommandés entre les rangées et entre les plants pour les espèces ou variétés cultivées. L'information concernant l'espacement peut être fournie par les producteurs de semences. Avant la récolte

Réduire au minimum les dégâts causés par les insectes et par les infections fongiques au voisinage de la culture, grâce à l'application d'insecticides et de fongicides agréés et à d'autres pratiques appropriées dans le cadre d'un programme de lutte intégrée contre les ravageurs.

Lutter contre les mauvaises herbes à l'aide de méthodes mécaniques ou en appliquant des herbicides agréés et grâce à d'autres pratiques sûres et appropriées.

Eviter de provoquer des dégâts mécaniques aux plantes pendant le cycle de culture.

Si on pratique l'irrigation, s'assurer que l'eau est répartie de façon régulière et que chaque plante en reçoit une quantité suffisante. L'irrigation est une méthode valable pour réduire le stress causé aux plantes dans certaines conditions de croissance. Les précipitations excessives durant l'anthèse (floraison) favorisent la dissémination et l'infection par *Fusarium* spp.; aussi faudrait-il éviter d'irriguer durant l'anthèse et durant le mûrissement des végétaux, en particulier pour le blé, l'avoine, l'orge et le seigle.

Procéder à la récolte lorsque la teneur en eau des plantes est faible et qu'elles sont arrivées à pleine maturité, à moins qu'en laissant les cultures parvenir à leur pleine maturité, on risque de leur faire subir des conditions extrêmes de chaleur, de précipitations ou de sécheresse. Retarder la récolte de céréales déjà contaminées par l'espèce *Fusarium* peut causer une augmentation sensible de la teneur en mycotoxines de la culture.

Avant la récolte, s'assurer que tout l'équipement qui servira à la récolte et à l'entreposage des cultures, est fonctionnel. Un inconvénient durant cette période critique peut nuire à la qualité des grains et renforcer la formation de mycotoxines. Préparer les pièces de rechange dans l'exploitation de manière à ne pas perdre de temps pour les réparations. Vérifier que l'équipement nécessaire pour mesurer la teneur en eau est disponible et étalonné.

IV.1.2 Récolte

Les conteneurs (par exemple, wagons, camions) à utiliser pour la collecte et le transport des grains récoltés du champ jusqu'aux installations de séchage, et aux installations d'entreposage après le séchage, devraient être propres, secs et non infestés par des insectes, exempts de moisissures visibles avant l'utilisation et la réutilisation.

Dans la mesure du possible, on évitera de causer des dégâts mécaniques aux grains et le contact avec le sol durant l'opération de récolte. Des mesures seront prises pour minimiser la diffusion des têtes à semences, des balles, des tiges infectées et des débris sur le sol où les spores peuvent inoculer la récolte suivante.

Durant l'opération de récolte, il est nécessaire de déterminer la teneur en eau en divers points de chaque charge de céréales récoltées, étant donné que la teneur en eau peut varier considérablement dans le même champ.

Immédiatement après la récolte, déterminer la teneur en eau des céréales; le cas échéant, les faire sécher jusqu'au taux d'humidité recommandé pour l'entreposage. Les échantillons prélevés pour mesurer la teneur en eau devraient être représentatifs du lot autant que possible. Pour réduire la variation de la teneur en eau dans le lot, on peut transférer les céréales jusqu'à une autre installation (ou silo) après le séchage.

Il faudrait faire sécher les céréales de manière à réduire les dégâts au minimum et à maintenir des taux d'humidité plus bas que ceux requis pour favoriser la prolifération fongique durant l'entreposage (généralement moins de 15%). Cela est nécessaire pour empêcher le développement ultérieur d'un certain nombre d'espèces de champignons qui peuvent être présents sur des céréales fraîches, en particulier l'espèce *Fusarium*.

Il faut nettoyer les céréales récemment récoltées afin d'enlever les grains endommagés et d'autres matières étrangères. Les grains contaminés mais sans symptôme ne peuvent être enlevés par des méthodes de nettoyage standard. Certains procédés de nettoyage, comme par exemple les tables de gravité, permettent d'éliminer quelques grains contaminés. Il faut tenter de mettre au point des méthodes pratiques pour séparer les grains contaminés mais sans symptôme de ceux qui ne sont pas contaminés.

IV.1.3 Entreposage.

Eviter d'empiler ou d'entasser des produits récemment récoltés pendant plus de quelques heures avant le séchage ou le battage, afin d'amoinrir les risques de prolifération fongique. Le séchage au soleil de certains produits dans un milieu

très humide peut entraîner une infection par les moisissures. Aérer les denrées par une ventilation forcée.

Il faut s'assurer que les installations d'entreposage comprennent des structures sèches, bien ventilées qui fournissent une protection contre les pluies, un drainage des eaux souterraines, une protection contre l'entrée des rongeurs et des oiseaux, et des fluctuations minimales de température

Il faut faire sécher les céréales jusqu'à des teneurs en eau sûres et les faire refroidir aussi vite que possible après la récolte. Réduire au minimum la quantité de matières étrangères et de grains endommagés dans les céréales entreposées. Se reporter au paragraphe pour évaluer l'utilisation de pesticides agréés.

Si nécessaire, on surveillera le niveau de mycotoxines dans les céréales lorsqu'elles arrivent à l'entrepôt et lorsqu'elles en sortent, à l'aide de plans d'échantillonnage et d'essai appropriés.

Pour les denrées ensachées, s'assurer que les sacs sont propres et secs et les empiler sur des palettes ou intercaler une couche imperméable à l'eau entre les sacs et le sol.

Aérer si possible les céréales en faisant circuler de l'air dans la zone d'entreposage pour maintenir une température appropriée et uniforme dans toute cette zone. Contrôler régulièrement la teneur en eau et la température dans les céréales stockées durant l'entreposage.

Mesurer la température des céréales entreposées à des intervalles déterminés pendant l'entreposage. Une hausse de température de 2-3 °C peut indiquer un développement microbien et/ou une infestation par les insectes. Séparer les parties apparemment infectées des céréales et envoyer des échantillons pour l'analyse. Ensuite, abaisser la température des céréales restantes et aérer. Éviter d'utiliser des céréales contaminées pour la production d'aliments destinés à la consommation humaine ou animale.

Utiliser de bonnes méthodes d'entretien afin de réduire au minimum la présence d'insectes et la formation de moisissures dans les entrepôts.

On utilisera notamment des insecticides et des fongicides agréés appropriés ou d'autres méthodes adaptées. On prendra bien soin de choisir des produits chimiques qui n'influeront pas sur les céréales ni les endommageront, en tenant compte de l'utilisation finale prévue des céréales, et de les utiliser dans les quantités prescrites.

L'utilisation d'un agent de conservation agréé et approprié (par exemple des acides organiques tels que l'acide propionique) peut s'avérer utile dans la mesure où ces acides suppriment efficacement les moisissures et préviennent l'apparition de mycotoxines dans les céréales destinées uniquement à l'alimentation animale. Les sels des acides sont habituellement plus efficaces pour l'entreposage à long terme. Il faudra faire preuve de prudence car ces composés peuvent agir négativement sur le goût et l'odeur des céréales.

Documenter les méthodes de récolte et d'entreposage appliquées chaque saison en prenant note des mesures (par exemple température, teneur en eau et humidité) et de tout déroutement ou changement par rapport aux pratiques traditionnelles. Ces informations pourraient être très utiles pour expliquer la (les) cause(s) de la formation de moisissures et de mycotoxines durant une campagne particulière et permettraient d'éviter de répéter les mêmes erreurs par la suite.

IV.2 Traitement des aliments contenant des mycotoxines.

IV.2.1 Méthode physicochimique

L'utilisation de procédés physico-chimiques est limitée par des coûts élevés, des pertes de qualité nutritionnelle des aliments, de sécurité, une faible efficacité inadaptées au traitement des fourrages (coût, praticité, spécificité) (Commission Bovine, Maisons Alfort, 11-12 juin 2008) les procédés les plus utilisés sont :

IV.2.1.1 Traitement thermique

Les aflatoxines sont résistantes à la dégradation thermique et ne sont donc pas complètement détruites par l'eau bouillante, par un autoclavage ou par de nombreux procédés thermiques de transformation des aliments plus de 50 % des teneurs en aflatoxines sont retrouvées dans les aliments après cuisson du

riz ou des pâtes (LOPEZ-GARCIA R., PARK D.L. et ZUBIAURE G.D).Cependant, la technique d'extrusion permet d'éliminer l'aflatoxines , et le DON , et la ZEA ,et la FB1 (Cazzaniga et al., 2001 ; Rustom, 1997) ; en réduisant la charge microbienne de façon globale

IV.2.1.2 Oxydo-réduction

Plusieurs agents oxydants (ozone, peroxyde d'hydrogène, eau oxygénée...) ont été utilisés pour détoxifier des aliments contenant des mycotoxines. Canadas (2006) a étudiée l'efficacité du procédé Oxygreen® utilisant l'ozone sur des céréales contaminées par de l'OTA. Les résultats de cette technique sont mitigés. Le procédé Oxygreen® permet d'obtenir un grain plus sain (moins de contaminations microbiologiques, moins de mycotoxines...) mais ne peut pas s'utiliser pour transformer du blé contaminé en blé sain, en raison d'effets secondaires, comme l'apparition d'adduits à l'ADN. Le bisulfite de sodium est un agent réducteur qui permet de réduire le taux de mycotoxines (AFB1, DON) dans certains aliments (Kabak et al., 2006).

IV.2.1.3L'ammoniation

L'ammoniation du maïs, des arachides et autres matières premières est largement utilisée pour diminuer les teneurs en aflatoxines des aliments. C'est une méthode efficace de décontamination des nourritures animales, utilisée depuis plusieurs années (Park et al., 1988). Elle est particulièrement efficace contre l'AFB1 lors de l'utilisation simultanée de hautes températures et de hautes pressions. Un des produits de dégradation observé pour ce procédé est l'AFD1. Le problème de cette méthode est son inefficacité contre les autres mycotoxines, son coût et la possible détérioration de la qualité sanitaire de l'aliment par une quantité résiduelle d'ammoniac trop importante (Huwig et al., 2001)

IV.2.2 Adsorption des toxines

L'immobilisation d'un xénobiotique par liaison non covalente à des adsorbants constitue une méthode de «décontamination» de plus en plus utilisée quand des mycotoxines sont présentes dans les aliments. Cette technique peut se révéler très performante pour certaines toxines, sous réserve du choix approprié de l'adsorbant. Elle peut également n'avoir qu'une très faible

efficacité en termes «d'adsorption de toxines», mais être quand même employée en alimentation animale pour d'autres raisons : propriétés fluidifiantes des argiles, effets «bénéfiques» de certains adsorbants, par habitude, pour raison commerciale

IV.2.2.1 ARGILES

Le terme d'argile correspond à des composés constitués de silicates lamellaires, plus ou moins hydratés, provenant de l'altération de silicates à charpente tridimensionnelle tels que les feldspaths (ANGENAULT J) Quand de l'aluminium est présent ces composés sont qualifiés d'aluminosilicates. La très forte adsorption des aflatoxines par ces composés, associée à une nette diminution de la toxicité des aliments contaminés, est vraisemblablement à l'origine de l'engouement actuel pour les adsorbants.

➤ Aluminosilicate de sodium et de calcium hydraté

Plus connus sous le nom de «HSCAS» (hydrated sodium calcium aluminosilicate), les aluminosilicates de sodium et de calcium constituent la classe d'aluminosilicate la plus étudiée pour ses propriétés adsorbantes. Ces composés font partie de la famille des zéolites. Les HCSAS révèlent de remarquables propriétés adsorbantes vis-à-vis des aflatoxines, les complexes formés étant stables pour une gamme de pH allant de 2,5 à 10 (PHILLIPS T.D., KUBENA L.F., HARVEY R.B., TAYLOR D.R. et HEIDELBAUGH N.D. : Hydrated sodium calcium aluminosilicate). Les aflatoxines ainsi adsorbées sont «immobilisées», moins de 10 % étant extractibles par les solvants organiques . Les propriétés adsorbantes des HCSAS ont également été explorées vis-à-vis d'autres toxines. Les résultats obtenus vis-à-vis de la zéaralénone ou l'ochratoxine A sont partiels et ceux obtenus pour les trichothécènes sont décevants [Revue Méd. Vét., 2000, 151, 12, 1095-1106].

Mycotoxines	Remarque	Références
AFB1	<p>In vitro : Plus de 80% d'AFB1 adsorbée</p> <p>In vivo : Ajout de HSCAS permet :</p> <ul style="list-style-type: none"> - d'augmenter le poids corporel chez les cailles - d'anihiler les effets négatifs sur la progéniture de Drosophiles - une absence d'AFM1 dans l'urine de dinde - de réduire les effets négatifs de l'AFB1 chez le poulet 	<p>In vitro : Phillips et al., 1988</p> <p>In vivo : Sehu et al., 2007</p> <p>Sişman, 2006</p> <p>Edrington et al., 1996</p> <p>Kubena et al., 1990</p>
OTA	<p>In vitro : Pas d'effet</p> <p>Galvano et al., 1998</p>	Galvano et al., 1998
ZEA	<p>In vivo :</p> <p>Ajout de HSCAS diminue le taux d'aberrations chromosomiques chez la souris</p> <p>Effet positif sur la longueur de gestation chez le vison</p>	<p>In vivo : Abbès et al., 2007</p> <p>Bursian et al., 1992</p>
FB1	<p>In vitro : 95% d'AFB1 et 85% de FB1 adsorbée</p>	<p>In vitro :</p> <p>Aly et al., 2004</p>
DON	<p>In vitro :</p> <p>Pas d'effet Entre 5% et 8% de DON adsorbée</p>	<p>In vitro :</p> <p>Galvano et al., 1998</p> <p>Sabater-Vilar et al., 2007</p>
T-2, HT-2	<p>In vitro et in vivo :</p> <p>Pas d'effet sur la toxicité</p>	<p>In vitro et in vivo :</p> <p>Kubena et al., 1990</p>

	de la toxine T-2	
--	------------------	--

Tableau 4: absorptions des différentes mycotoxines par HSCAS. (Jard, Gwénaëlle, 2009)

➤ Zéolites

Les Zéolites sont des substances cristallisées ayant une structure constituée de tétraèdres interconnectés de SiO₄ et AlO₄. Pour faire partie de la famille des zéolites l'aluminosilicate doit respecter un ratio (Si + Al)/O égal à 0,5. Les zéolithes non modifiées sont utilisées pour adsorber l'AFB1 alors que les zéolithes hydrophobes sont plutôt utilisées pour l'OTA et la ZEA (Daković et al., 2005). In vitro 100% de l'AFB1 est adsorbée dans le liquide de rumen bovin (Daković et al., 2005 Spotti et al., 2005) Zéolithe hydrophobe capable d'adsorber environ 80% de la ZEA (interactions hydrophobes) In vitro (Daković et al., 2005, 2007)

➤ Bentonite

La bentonite est une argile de type «montmorillonite», formée par le vieillissement de cendres volcaniques. Le terme de bentonite regroupe donc différents produits de même origine mais de compositions différentes. Composées d'aluminium et de silice elles font également partie de la grande catégorie des aluminosilicates. Certaines sont riches en sodium, d'autres en calcium, potassium ou magnésium ; toutes contiennent des oligo-éléments et des traces de métaux toxiques. La bentonite de sodium est la plus courante et la plus utilisée en alimentation animale. En thérapeutique, la bentonite a été utilisée comme adsorbant dans le traitement d'intoxications par le paraquat chez le chat et le rat (MEREDITH T.J. et VALE J.A.) Ses propriétés adsorbantes vis-à-vis des aflatoxines ont été explorées, In vitro, 2 % de bentonite adsorbent 94 à 100 % de l'AFB1 (400 pg) en solution dans du tampon phosphate à pH 6,5 (MASIMANGO N., REMACLE J. et RAMAUT J). Des études conduites sur aliments moisissés révèlent que 10 % de bentonite adsorbent 70 % de l'AFB1 (44,6 ppb) présente. - In vivo, l'ajout de bentonite de sodium à

des aliments contaminés par les aflatoxines diminue leur toxicité chez les porc(LINDEMANN M.D., BLODGETT D.J., KORNEGAY E.T. et SCHURIG G.G). Insistons sur le fait que, pour la bentonite comme pour les autres argiles, tous les effets délétères des aflatoxines ne sont pas systématiquement inhibés(KECECI T., OGUZ H., KURTOGLU V. et DEMET O)

IV.2.3 Les levures ou produits dérivés de levure.

Des souches entières de levures, *Saccharomyces cerevisiae* ou d'autres types de levures œnologiques ont la capacité à adsorber les mycotoxines avec une efficacité très variable. les éléments responsables de cette adsorption, des glucomannanes extraits de parois de levures, ont été testés séparément in vitro et in vivo. Les résultats obtenu pour les parois des levures enrichies en glumannanes de *S. cerevisiae* pour la mycotoxines AFB1 In vivo est :

40% de l'AFB1 adsorbée In vivo et Baisse des effets génotoxiques de l'AFB1 après ajout de *S. cerevisiae* chez le rat(In vitro : Shetty et al., 2006, 2007 In vivo)

In vitro : Très efficace (A1 =97%) (In vitro : Yiannikouris, 2004).

- Pour *S. cerevisiae* Levures œnologiques les résultats obtenu sont 45%d'OTA adsorbée In vitro(Bejaoui et al., 2004 Cecchini et al., 2006 Angioni et al). Et pour MTB-100 Peu efficace (A=11%) contre l'OTA(2007 Yiannikouris, 2004)
- MTB-100 contre la ZEA In vitro : Efficace (A=48%)
Extraits de parois de levure adsorbent entre 15% et 50% de la ZEA In vitro (Yiannikouris, 2004 In vitro)
- MTB-100 contre la DON les resultat obtenu In vitro : Efficace (A=41%) (Yiannikouris, 2004)

IV.2.4 Les bactéries lactiques

Certaines souches de bactéries lactiques, de propionibactéries et de bifidobactéries possèdent des structures pariétales capables de se lier aux mycotoxines L'adsorption entre les mycotoxines et les bactéries lactiques semble être du à des polycarbonates, provoquant des liaisons hydrophobes (Haskard et al., 2000 et El-Nezami et al., 2004).

- *L.rhamnosus* contre la AFB1 In vitro : Adsorption de 80% de l'AFB1
Adsorption réversible
Adsorption de 60% de l'AFM1
Inactivation à l'acide ou à la chaleur augmente l'efficacité d'adsorption
(In vitro : Haskard et al., 2001 Pierides et al., 2000 El-Nezami et al., 1998, 2002)
- *L. gasserii* *L. acidophilus* *L. amylovirus* *L.lactis* *B.lactis* *B. animalis* *B. longum* *B. bifidum* *B. adolescentis* *Propionibacterium freundenreichii* *L. casei* *L. plantarum* *L. fermentum* Adsorption de 40 à 70% de l'AFB1 par des bactéries vivantes ou mortes
Adsorption réversible (Pierides et al., 2000 Bueno et al., 2007 Peltonen et al., 2001 El Nezami et al., 2000 Fazeli et al., 2009)
- *L. acidophilus* *B. animalis* in vivo contre OTA :
Adsorption de 95%
Baisse de toxicité de 59% par analyse de micronoyaux sur cellules hépatiques humaines(In vitro : Fuchs et al., 2008)
- *Oenococcus oeni* : 28% d'OTA adsorbée (Del Prete et al., 2007)
- *L.rhamnosus* contre la ZEA In vitro :
Adsorption de 55% De pH 4 à pH 8
Inactivation à l'acide ou à la chaleur (76% d'adsorption)
augmente l'efficacité d'adsorption par rapport aux bactéries viables (47%)
(In vitro : El-Nezami et al., 2002 Niderkorn et al., 2006 El-Nezami et al., 1998, 2002)
- *L.rhamnosus* contre FB1 In vitro :
Entre 0 et 24% d'adsorption selon le pH et la souche (Niderkorn et al., 2006)
- *L.rhamnosus* contre le DON In vitro :
Entre 6% et 16% d'adsorption selon le pH et la souche (Niderkorn et al., 2006).

CHAPITRE 04 :

MOYENS D'ANALYSES ET DE DIAGNOSTIC DES
CHAMPIGNONS

V Moyens d'analyses et de diagnostic des champignons et les mycotoxines.

Pour l'analyse des mycotoxines habituellement présentes à l'état de trace dans les aliments (c'est-à-dire en quantité inférieure au ppb, soit inférieure au $\mu\text{g}/\text{kg}$), matrices réputées complexes sur le plan analytique, il existe toute une panoplie de méthodes fondées essentiellement sur le principe de la séparation chromatographique des molécules puis de leur détection par spectrophotométrie ou par fluorimétrie. Les méthodes physico-chimiques comme la chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie gazeuse (CPG) ou la chromatographie liquide haute performance (CLHP) permettent la quantification des mycotoxines. Des méthodes plus récentes et plus rapides sont fondées sur des principes immunochimiques comme le test ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).

À ce jour, les techniques d'évaluation du risque lié aux toxines fongiques sont celles permettant le dosage direct des toxines. Néanmoins, lorsque la toxine est sécrétée, il est déjà trop tard. En effet, les mycotoxines étant plus difficiles à dégrader que les moisissures, les procédés décontaminants employés sont souvent susceptibles d'altérer les propriétés des aliments et matières premières (Olsen M, Jonsson N, Magan N, et al 2003). Il est donc primordial de pouvoir rapidement détecter des mycètes toxigènes infestant des matières premières.

Plusieurs méthodes sont disponibles : la culture en boîte de Pétri, la recherche d'antigènes de surface et la quantification de l'ergostérol membranaire. Toutefois, ce sont des techniques fastidieuses et peu spécifiques. Contrairement aux autres procédés, la Polymerase Chain Reaction (PCR) permet une détection rapide

V.1 L'ECHANTILLONNAGE

Le but de cette opération est de produire un échantillon représentatif d'un lot de matière en vue de le soumettre au laboratoire pour subir l'essai. La procédure d'échantillonnage est ainsi primordiale dans l'évaluation de la qualité sanitaire d'un lot dont les conséquences sont à la fois commerciales (déclassement du

produit) et sanitaires (mise sur le marché d'un produit présentant un risque pour le consommateur).

Cette notion de représentativité repose sur des statistiques qui ont été déclinées en différentes approches ou options. La rédaction de normes et directives spécifiques ainsi que la mise en place de démarches d'assurance qualité permettent de rendre plus fiable cette délicate et importante étape (Blanc, 2005).

Les mycotoxines sont souvent distribuées dans l'alimentation d'une manière très hétérogène, parce qu'elles sont formées par des moisissures qui interviennent de manière isolée dans le matériel brut, ou au niveau de grains isolés. Plus l'élément recherché est présent à un niveau faible et plus cet élément est réparti d'une manière hétérogène, plus difficile est la confection d'un échantillon représentatif. Les mycotoxines en sont la parfaite illustration (Whitaker and Dickens, 1972, 1974 et 1979).

Pour qu'un échantillon soit représentatif, il doit être:

- obtenu avec un équipement approprié, comme une sonde pour le grain stationnaire et un échantillonneur inverseur de type mécanique ou un échantillonneur de type « pelican » pour remuer le grain.
- obtenu en utilisant un profil d'échantillonnage et des procédures visant à recueillir des échantillons dans toutes les zones du lot .
- de taille appropriée, qui elle-même dépend de la taille du lot et de la marchandise, ex : il faut prélever un échantillon de 2,5 à 5 kg de maïs et un échantillon de 1,5 à 2,5 kg de blé ou d'orge à partir d'un camion ou d'un wagon de grain.
 - identifié et indiqué sur l'emballage
 - manipulé de façon à conserver la représentativité. Cela signifie que les échantillons doivent être conservés dans un lieu frais et sec, et soumis en double ou en triple exemplaires dans des sacs en papier ligné . N'expédiez jamais d'échantillons dans des sacs en plastique car il est possible qu'ils favorisent la croissance de

moisissures si le niveau d'humidité de l'échantillon dépasse les 14%.

V.2 Les différentes méthodes d'analyse des mycotoxines:

V.2.1 Méthodes physico-chimiques :

- Chromatographie sur couche mince.

La CCM est une technique couramment utilisée pour séparer des composés, dans un but analytique ou de purification. 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. Elle permet la séparation et le dosage simultanés de plusieurs toxines.

- Chromatographie liquide à haute performance

Dans ce procédé, l'échantillon à analyser est poussé par un liquide (phase mobile) à travers une colonne remplie d'une phase stationnaire de faible granulométrie. L'augmentation de la pression dans le système est due au fort débit d'écoulement de l'éluant. La CLHP est préférée à la CCM en raison de ses bons facteurs de sensibilité, détectabilité et spécificité. En revanche, la CLHP reste la méthode chromatographique la plus coûteuse

- Chromatographie en phase gazeuse La CPG s'applique aux composés gazeux. Le mélange à étudier est vaporisé à l'entrée d'une colonne contenant la phase stationnaire (liquide ou solide). Il est ensuite transporté à travers cette colonne à l'aide d'un gaz vecteur (phase mobile). Les différents composés du mélange vont se séparer et sortir de la colonne, les uns après les autres, suivant leur affinité avec la phase stationnaire. La CPG est peu utilisée car elle impose de volatiliser la molécule à analyser. Cependant, elle présente l'avantage d'être aisément associée à la spectrométrie de masse, qui facilite l'identification de la molécule (Jeunot B. Les fusariotoxines sur céréales, détection, risque et nouvelle réglementation. Sous la direction

de Benizri E. Thèse de doctorat de l'Université Henri Poincaré de Nancy I, 2005. 125p.).

V.2.2 Méthodes immunologiques

➤ Dosage immuno-enzymatique - Test ELISA

La méthode immuno-enzymatique ELISA est principalement employée en immunologie pour détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon.

Le test ELISA est une technique utilisant un ou deux anticorps . Un de ces anticorps est spécifique de l'antigène recherché (par exemple une toxine fongique), tandis que l'autre réagit aux complexes immuns formés (complexes antigène-anticorps) et est couplé à une enzyme. Cette enzyme permet de catalyser une réaction qui libère un substrat chromogène ou fluorogène, capable de colorer le milieu. Cette coloration, proportionnelle à la quantité de toxines contenues dans l'échantillon, pourra ensuite être appréciée par fluorimétrie ou colorimétrie.

C'est la méthode la plus fréquemment utilisée puisque des kits sont disponibles et qu'elle est simple et rapide (Zöllner et Mayer-Helm, 2006). Ces techniques sont avantageuses lorsque l'objectif ne consiste qu'à conclure en la présence ou en l'absence de contamination, sans besoin de quantification précise. Il s'agit d'un test rapide qui requiert un délai de 3 à 24 heures

V.3 Les différentes méthodes d'analyses des champignons :

V.3.1 Culture sur boîte de pétri :

La culture est réalisée sur des milieux fongiques spécifiques (milieu de Sabouraud sans cycloheximide). Elle permet l'identification précise du genre et de l'espèce du champignon impliqué. La pousse se fait en 3 à 5 jours à 25–30 °C et 37 °C. L'aspect macroscopique et l'analyse microscopique de la culture permettent le diagnostic de genre et d'espèce. Pour *Aspergillus*, l'examen microscopique montrera souvent des têtes aspergillaires caractéristiques (université médicale virtuelle francophone)

V.4 Principe de la PCR

La « réaction de polymérisation en chaîne » est une technique de biologie moléculaire basée sur l'amplification, in vitro, de séquences spécifiques d'acides nucléiques (ADN ou ARN) à partir de faibles quantités d'ADN. Elle permet ainsi l'obtention d'une quantité suffisante de matériel génétique qui pourra être détecté et étudié. Pour cela, une série de réplifications d'une séquence d'ADN double-brin est répétée en boucle. Ainsi, les produits obtenus à la fin de chaque cycle servent de précurseurs pour le cycle suivant. La réaction d'amplification est donc exponentielle (Borde I. La PCR).

C'est une technique couramment utilisée pour la mise en évidence du VIH, des virus de l'hépatite (B, C et D) ou pour la mesure d'une charge virale. Pour la détection de champignons microscopiques, la PCR a pour cibles les séquences d'ADN nucléaires et ribosomales, ou les séquences codant directement les mycotoxines.

CHAPITRE 05 :

CONSÉQUENCE SANITAIRE ET ÉCONOMIQUE DES
CHAMPIGNONS ET LES MYCOTOXINES

VI Les conséquences économiques et sanitaires des champignons et les mycotoxines :

Les altérations induites par les moisissures sont d'une grande importance économique en raison des pertes qu'elles occasionnent sur la productivité animale, le commerce national et international, et du caractère onéreux des mesures de séchage et de conservation qui sont nécessaires à la prévention de la contamination. Il faut ajouter également les problèmes de sécurité alimentaire pour l'homme, par l'intermédiaire des produits (lait et viande) pouvant être contaminés (**Boudraet al, 2002**).

Il est très difficile d'évaluer avec précision l'impact des contaminations alimentaires par les mycotoxines sur l'économie agricole, mais les répercussions financières peuvent être considérables. Les pertes de revenus dues aux aflatoxines sont potentiellement élevées et pénalisantes pour l'ensemble de la filière d'élevage (**Firmin, 2011**).

La contamination annuelle des cultures par les mycotoxines a été estimée mondialement à 25%, ce qui se traduit par des milliards de dollars de pertes (**Whitlow et Hagler 2001**).

Le tableau 04 donne un aperçu sur les dégâts économiques annuels, provoqués par différents champignons et aflatoxines, répartis sur différents secteurs en certains pays de l'Asie (**Zinedine, 2004**).

Secteur	Nature des dégâts	Maïs	Arachides	Maïs et Arachides
Dégradation du produit commercialisé	Détérioration de l'aspect extérieur des graines	70,9	36,8	107,7
Intoxication humaine	Cancer du foie primaire dû à l'Aflatoxine	176,5	114,7	291,2

Intoxication des animaux domestiques (volaille, bétail, porc)	Diminution de croissance, stérilité, effets mutagènes, tératogène carcinogène.	71,7	6,2	77,9
Total		319,1	157,7	476,8

Tableau 5: estimations des dégâts économique en Millions de \$ Australiens, causés par différents champignons et aflatoxines en Indonésie, aux Philippines et en Thaïlande en 1991 (Zinedine, 2004).

La contamination des aliments destinés aux animaux par les mycotoxines occasionnent des coûts économiques directs et indirects pour la filière d'élevage :

- Les pertes directes sont dues à l'altération de l'aliment par les moisissures développement fongique peut conduire à la destruction de la récolte lorsque le végétal est fortement attaqué, et lorsque le grain et les fourrages sont rendus inconsommables. Dans d'autres cas, la croissance des moisissures se traduit par une altération sensorielle et nutritionnelle des récoltes (diminution des teneurs en matière sèche, matière azotée et glucides), responsable d'un refus ou d'une diminution de l'ingestion par l'animal. Dans ces situations, la ration contaminée ne couvre pas les besoins énergétiques de l'organisme. Les animaux en bas âges ou en lactation réagissent très rapidement par un ralentissement de leur croissance ou par une chute de la production laitière (**Firmin, 2011**).
- Les pertes indirectes sont dues à la production de mycotoxines. La présence de mycotoxines sur les aliments peut entraîner une baisse du revenu par la chute de la productivité des animaux de rente, auxquelles s'ajoutent des frais de soins vétérinaires. Des dépenses

supplémentaires liées à la mise en place de réglementations (enquêtes et analyses de l'aliment), l'investissement pour la recherche et la mise en œuvre de moyens de prévention et de détoxification des aliments (emploi de conservateurs et d'additifs), peuvent également être comptabilisées dans le coût économique de la contamination des aliments de bétail par les mycotoxines (**Firmin, 2011**).



PARTIE
EXPÉRIMENTALE

I Introduction

étant donné l'importance socio-économique de l'élevage ovin et caprin dans notre pays , d'une part, et le faible intérêt porté à ces espèces dans la clinique pédagogique des ruminants qui s'intéresse habituellement à la pathologie bovine ,mais aussi au faible intérêt porté à leurs alimentation, de ce fait les maladies qui sont provoqué par cette dernière d'autre part.

Notre travail consiste en l'étude des principaux champignons retrouvés dans l'alimentation d'élevage ovins et caprins et la relation entre la présence de celle-ci et l'apparition de certaines maladies. L'objectif c'est d'isoler d'identifier les espèces fongique présentent dans les prélèvements qui ont été fait dans l'alimentation de divers élevages ovins et aussi voir les principales pathologies rencontrés dans ces élevage.

II Matériel et méthodes :

II.1 Présentation du lieu de l'étude :

Les prélèvements ont été faits dans deux différentes wilaya d'Algérie qui sont la wilaya de Blida et la wilaya d'Alger :

- **Blida** : les deux premiers prélèvements ont été fait dans la commune de Larbâa qui est située au nord-est de la wilaya de Blida. Son chef-lieu est situé à 25 km au sud-est d'Alger et à 34 km au nord-est de Blida et à 60 km au nord-est de Médéa
- **Alger** : les deux autres prélèvements ont été dans deux communes différentes qui sont
 - La commune de Les Eucalyptus qui est située au sud-est de la wilaya d'Alger, à environ 20 km au sud-est d'Alger.
 - La commune de Baraki qui est située à environ 14 km au sud-est d'Alger et à 35 km au nord-est de Blida .

L'étude des prélèvements ont été fait dans un laboratoire vétérinaire et contrôle qualité des produits agroalimentaire, cosmétiques et eaux (AVCQ LAB) situé 36.rue Mohamed BELARBI commune de baraki wilaya d'Alger.

II.1.1 Présentation des élevages :

- Elevage n°1 (L'Arbâa) : élevage ovins et caprins qui est destinés à l'engraissement leurs rations alimentaires est à base de granulés aviaire comme ration principale et de pains rassis à des proportions moins importantes.
- Elevage n°2 (abattoir de eucalyptus) : élevage ovins et caprins ,leurs ration alimentaire est seulement à base de concentré .
- Elevage n° 3(baraki) : élevage de moutons qui sont destinés à l'engraissement leurs ration alimentaire est principalement à base de

II.2 Matériels utilisés :

Matériels	Descriptions
Sac stérile	Utilisé pour acheminer les échantillons au laboratoire
Cuillère	Utilisé pour le prélèvement des échantillons alimentaire
Echantillons	Aliments (concentré, granulés, pain rassie.....) prélevés dans des élevages
Eau physiologique	Utilisé pour la préparation de l'échantillon
Flacons en verre	Utilisé pour mettre l'eau physiologique et l'échantillons
Bec benzène	Utilisé pour stériliser la surface de travaille et le matériels
Milieu de culture sabouraud dextrose agar	Utiliser pour l'isolement le dénombrement et l'identification des souches fongiques.
Boite de pétri	Utilisé pour la mise en culture des échantillons
Bain marie Pipette pasteur et poire	Utilisés pour faire fondre la glose Utilisés pour prélever un volume d'un liquide
Anse de platine	Utilisé pour prendre des colonies de la boite de pétri et les déposer dans les lames
Incubateur	L'incubation des boite de pétri préalablementensemencé
Microscope optique (lame et lamelle)	Utilisés pour l'identification des champignons

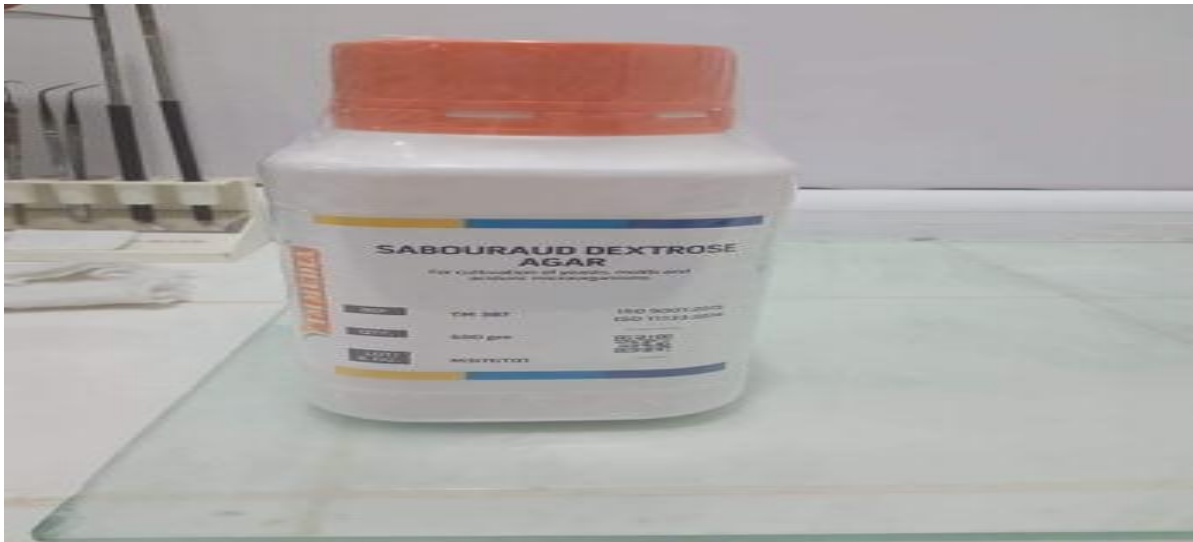
Tableau 6: matériels utilisés



Bain mari



Incubateur



Milieu de culture

II.3 Méthodologie de travail sur le terrain:

II.3.1 Echantillonnage :

Pour avoir une idée sur les champignons associés à l'alimentation d'élevages ovins et caprins, nous avons prélevé des échantillons à partir des aliments distribués comme ration journalière pour ces élevages considérés dans l'étude de la manière suivante :

Nous avons procédé au prélèvement en utilisant une cuiller stérile, Le but de cette opération est de produire un échantillon représentatif du lot .les échantillons sont mis dans des sacs stériles sur lesquels sont indiqués la date d'échantillonnage, la variété de l'aliment, le nom de l'éleveur.

L'aliment prélevé est transféré le jour même au laboratoire pour la mise en culture.

II.4 Méthodologie de travail au laboratoire :

II.4.1 Préparations du milieu de culture :

Nous avons utilisé un seul milieu de culture le milieu sabouraud dextrose agar ,utilisé pour le l'isolement et l'identification des moisissures et levures .

- **Composition du milieu :**

- ✓ Dextrose.....40,000 gms /ltr
- ✓ Agar.....15,000gms/ltr

- ✓ Peptone mycologique.....10,000gms /ltr
- ✓ Ph.....5.6±0.2 à 25°C

Le milieu de culture est préparé selon les étapes suivantes :

- Dissoudre 65 grammes dans 1000ml d'eau distillé, et porté le mélange à ébullition
- Stérilisé dans un autoclave à 121°C pendant 15 min

II.4.2 Préparation des échantillons :

Cette opération se fait en passant par les étapes suivantes :

- Prendre 4 flacons en verre dans lesquels on va mettre 90 ml d'eau physiologique.
- Prendre à l'aide d'un bistouri stérile environ 10g de notre échantillon.
- mettre les 10 g d'échantillon dans les flacons et mélanger le tout.
- On laisse reposer jusqu'à l'obtention d'un surnageant

(il faut toujours veiller à travailler dans la zone stérile du bec benzène et à chaque ouverture et fermeture du flacons on flambe le couvercle et on nettoie la zone de travail avec un désinfectant pour éviter toute contamination)



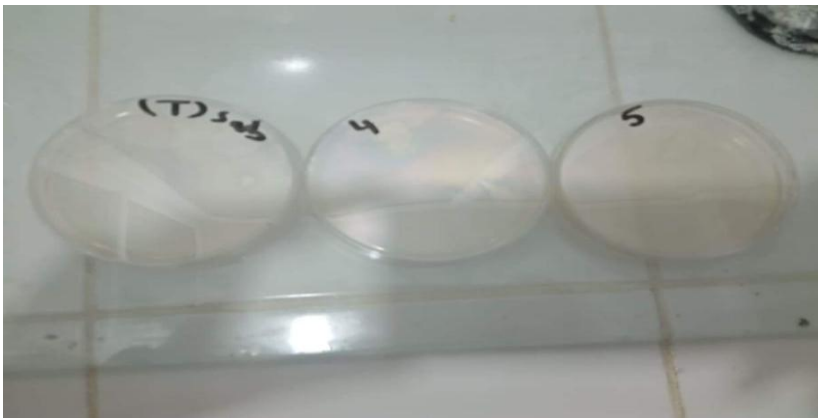
Echantillons plus eau physiologique

II.4.3 L'ensemencement.

Cette opération se réalise sur le milieu de culture (sabouraud dextrose agar), selon les étapes suivantes :

- ✓ Prendre 5 boite de pétri ,4 pour les échantillons la cinquième comme boite témoin, on motionne sur la boite le numéro de l'échantillon.
- ✓ Nous avons met 1 ml de surnagent prit dans le flacon à l'aide d'une pipette pasteur dans la boite de pétri.
- ✓ Ensuite nous avons rajouté un volume de 10 ml de gélose qui a été préalablement fondu dans un bain marie.
- ✓ Nous avons mélangé le tous on faisant délicatement des mouvements en huit sur la paillasse.
- ✓ Nous avons laissé reposer jusqu'à la solidification de la gélose
- ✓ Toujours respecter les règles d'asepsie (on travaille dans la zone stérile du bec benzène , on flambe les pipette pasteurs avant chaque utilisation et après ,on flambe les flacons a chaque ouverture et fermeture)





Les étapes de l'ensemencement

II.4.4 Incubation :

Enfin, on fait passer les boîtes ensemencées à l'incubation à 36°C pendant une durée qui varie entre 4 à 6 jours.

II.4.5 L'identification :

L'identification reste l'opération la plus difficile dans le domaine de la mycologie, elle a pour but de classer les souches fongiques par genres et espèces selon les critères d'identification. Elle est basée sur les deux aspects : microscopiques et macroscopiques, (BOTTON et al, 1990; ROBERT et al, 1999).

- Aspects macroscopique :

L'examen des boîtes s'effectue à l'œil nu. On observe attentivement, dans un endroit bien éclairé l'aspect du champignon (la couleurs ,la taille ,la pigmentation , les contours ...)

- Aspects microscopiques :

L'examen microscopique est basé sur les caractères morphologiques




La préparation du matériel fongique pour l'observation microscopique est réalisée comme suit :


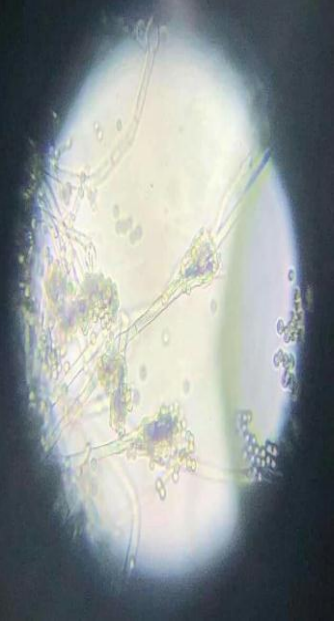



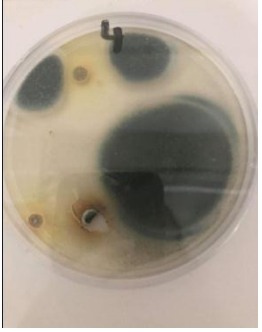

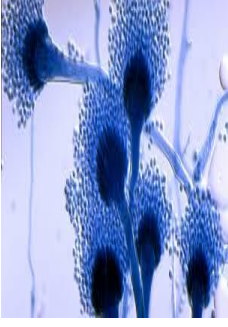
- ✓ Prélever un fragment de la colonie à l'aide d'une anse de platine, flambée à la flamme du bec bunsen, puis le déposer sur une lame stérile.
- ✓ Dilacérer le fragment mycélien avec l'anse de platine pour le rendre moins dense et mieux observable, sans autant l'abîmer complètement.
- ✓ Recouvrir la préparation à l'aide d'une lamelle.

Et enfin observation au microscope optique grossissement 40.

III Résultats :

- Résultats sur l'identification et l'isolement des espèces fongiques associés à l'alimentation animal.

Echantillons	Espèces fongique	Aspect macroscopique des colonies	Aspect microscopique Au grossissement x40	image de référence
N°-01 granulé aviaire	Trichoderma sp			01 

<p>N°-02 pain rassis</p>	<p>Penicillium sp</p>			<p>02</p> 
	<p>Aspergillus sp</p>			<p>03</p> 
<p>N°-03 concentre ovin</p>	<p>Aspergillus sp</p>			<p>04</p> 

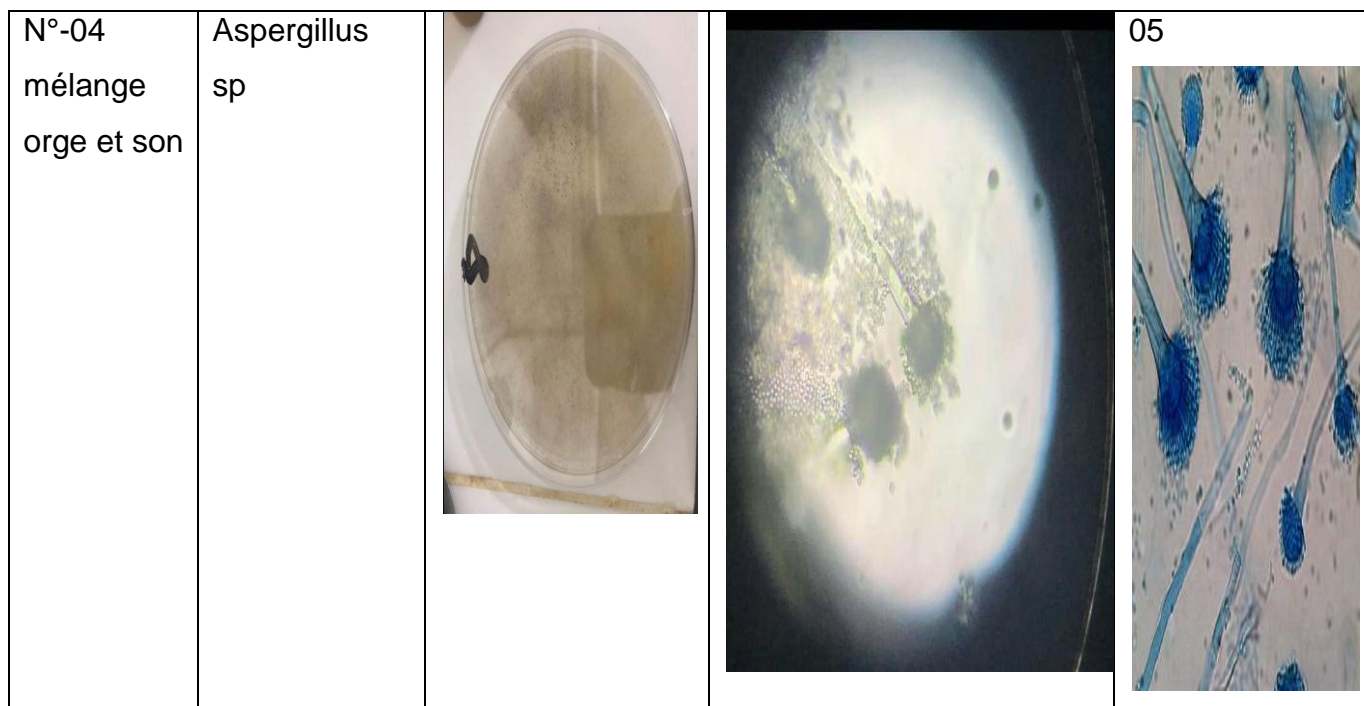


Tableau 7: résultats

D'après les résultats obtenus, on remarque la manifestation de trois genres: Aspergillus, Penicillium, trichoderma. Le genre Aspergillus regroupe le nombre des espèces les plus élevé.

➤ Fréquences d'apparition des espèces fongiques.

Le genre	Nombre de répétitions	Fréquence d'apparitions
Aspergillus	3	60%
Penicillium	1	20%
Trichoderma	1	20%
Totale	5	100%

Tableau 8: fréquence d'apparition des espèces fongique

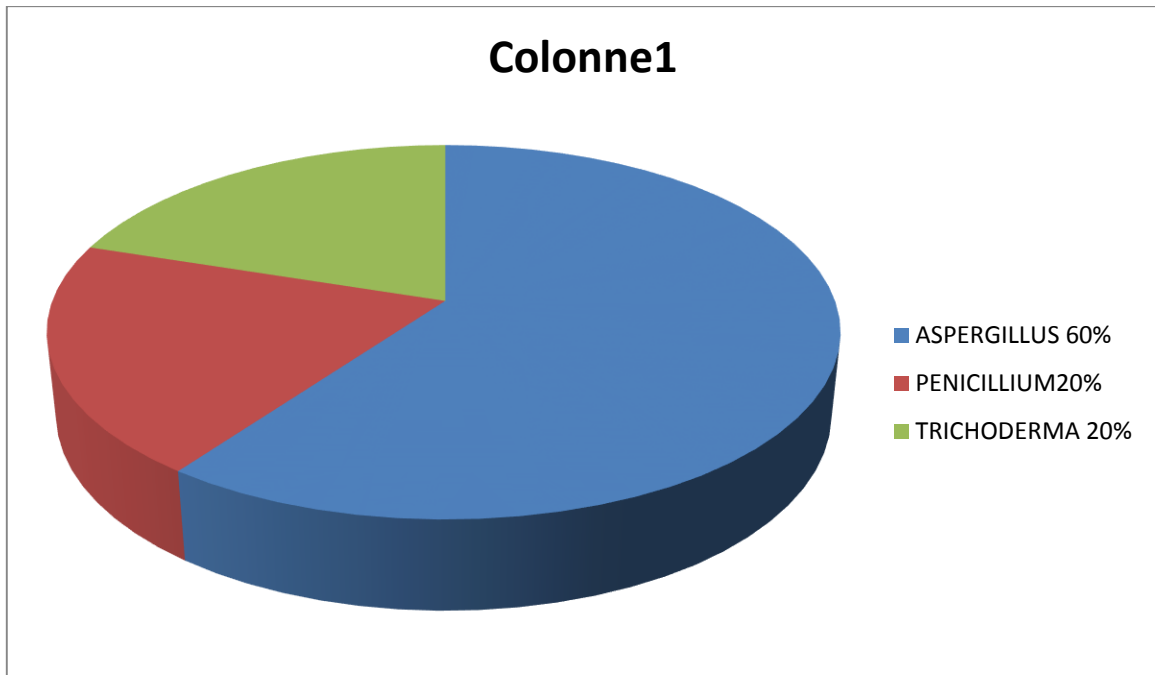


Figure 09 : fréquence d'apparitions des espèces fongique

IV Discussion :

L'isolement et l'identification des champignons associés à l'alimentation animale nous a permis d'obtenir des résultats, on remarque la manifestation de trois genres: Aspergillus, Penicillium, trichoderma . Le genre Aspergillus regroupe le nombre d'espèces le plus élevé.

➤ Elevage n-°01 :

- Echantillons n-° 01(granulé aviaire)

pour le premier échantillons (granulé aviaire) on a identifié le genre trichoderma, qui dans un milieu favorable peut produire certaine mycotoxines parmi ces mycotoxines on a les trichotecéne .

Les trichotecéne sont des mycotoxines qui à certaine dose peuvent provoquer des trouble chez l'animale, L'administration de 0.3-0.6 mg/kg PV de toxine T-2 par intubation œsophagienne à des agneaux n'entraîne aucun effet spécifique. Les animaux développent en revanche un ecthyma contagieux et des signes de coccidiose plus sévères, et avec une incidence supérieure [Friend et al., 1983].

Au cours de notre étude nous avons recueilli des informations chez le vétérinaire traitant de l'élevage en question et nous avons constaté par nous même que il y'avais des cas d'agneau atteint d'ecthyma contagieux cela laisse supposé que ça peut être dû à la fabrication de trichoteces par les champignons trichoderma identifié dans l'alimentation et qui peut être la cause de l'apparition de l'ecthyma contagieux.

- Echantillons n-°02 (pain rassie)

Pour le deuxième échantillon (pains rassie) nous avons identifié deux genre qui sont aspergillus sp et penicillium sp qui dans des conditions favorable fabrique des mycotoxines qui sont :

Aspergillus sp : Aflatoxines, Patuline, ochratoxine A.

Penicillium sp : pauline, ochratoxines A.

Ces mycotoxines peuvent induire plusieurs troubles chez l'animale,

Le tableau clinique d'une intoxication à l'ochratoxines A est marqué par une urémie, des hépatites, des ulcères gastro-intestinaux et des pneumonies [Humphreys, 1988].

Le tableau clinique d'une intoxication à l'aflatoxine est marqué par une diminution de la quantité ingérée, des immunodépressions, des atteintes hépatiques.

Le tableau clinique d'une intoxication à la patuline est marqué par des paralysie des réservoirs gastrique et des troubles nerveux.

Au cours de l'étude de l'élevage nous avons constaté la présence de plusieurs troubles respiratoires et aussi des baisses d'appétit qui peut être entre autre dû à la présence et l'ingestion de l'ochratoxine A et aflatoxines.

➤ Elevage n-°02 :

Pour le troisième échantillon (concentré ovin) on a identifié qu'un seul genre qui est aspergillus sp synthétisant dans des condition favorable trois mycotoxines aflatoxines, ochratoxine, patuline .

Dans cet élevage les maladies les plus prédominantes sont des gastro-entérites, nous pouvant supposer que ça peut être dû à l'ochratoxine qui provoque des ulcères gastro-intestinaux.

➤ Elevage n-°03 :

Pour le quatrième échantillon (mélange orge et son) on n'a identifié qu'un seul genre qui est aspergillus sp.

Dans cet élevage les maladies les plus prédominantes sont des diarrhées chronique donc aucune maladie liée à la présence de mycotoxines d'aspergillus n'a été observé de ce fait cela nous laisse supposé que les champignons n'étaient pas dans des conditions favorable pour la production de mycotoxines ou bien que la dose de mycotoxines fabriqué n'étaient pas toxique.

IV.1 Tableau récapitulatif :

Élevages	Echantillons	Résultats	Mycotoxines produites par ces champignons	Les maladies produites par ces mycotoxines	Les maladies retrouvées dans l'élevage
Élevage °1	Echantillon °1	Trichoderma sp	Trichotécène	Baisse de consommation alimentaire. Trouble neuromusculaire et nerveux.	Des problèmes respiratoires, la gale, l'ecthyma contagieux
			Patuline	Syndrome nerveux, paralysie des réservoirs gastriques	
	Echantillon °2	Penicilium sp	Ochratoxine A	Urémies, hépatites, des ulcères gastro-intestinaux, pneumonies	
			Aflatoxine	Diminution des quantités ingérées, diminution de la production animale, atteintes hépatiques, effets immunosuppresseurs	
			ochratoxine A	Urémies, hépatites, des ulcères gastro-intestinaux, pneumonies	
			Patuline	Syndrome	

				nerveux, paralysie des réservoirs gastriques	
Elevage °2	Echantillon °3	Aspergillus sp	aflatoxine	Diminution des quantités ingérés, diminution de la production animale, atteintes hépatiques, effets immunosuppressifs	Gastro-entérites
			Ochratoxine A	Urémies, hépatites, des ulcères gastro-intestinaux, pneumonies	
			patuline	Syndrome nerveux, paralysie des réservoirs gastriques	
Elevage °3	Echantillon °4	Aspergillus sp	aflatoxine	Diminution des quantités ingérés, diminution de la production animale, atteintes hépatiques, effets immunosuppressifs	Diarrhées chroniques
			Ochratoxine A	Urémies, hépatites, des ulcères gastro-intestinaux, pneumonies	
			patuline	Syndrome nerveux, paralysie	

				des réservoirs gastriques	
--	--	--	--	------------------------------	--

Tableau 9: tableau récapitulatifs

Conclusion générale :

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produites par les moisissures appartenant principalement aux genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* et *Alternaria*. Elles sont produites sur une large variété de denrées alimentaires et leurs productions dépendent d'un certain nombre de conditions environnementales (conditions météorologiques favorables, un milieu de croissance idéale...).

De nombreuses recherches ont été conduites depuis plusieurs années afin de comprendre l'implication biologique des mycotoxines dans l'alimentation des animaux et de l'Homme. La palette des effets néfastes des mycotoxines est très étendue : des effets cancérogènes, mutagènes, toxique pour la reproduction, immunomodulateurs, oestrogéniques, neurotoxique, néphrotoxique, hépatotoxique ont été rapportés. Ce risque est encore aujourd'hui difficile à évaluer. Du fait du souci grandissant des consommateurs en matière de sécurité alimentaire, les industriels de l'alimentation humaine et animale ainsi que les éleveurs doivent être avertis du risque mycotoxicologique. Il est rassurant de savoir que les ruminants constituent un filtre efficace contre ces toxines qui contaminent largement le monde végétal et se retrouvent en partie dans les produits issus des autres espèces animales. La présence du rumen et de sa population microbienne explique l'efficacité des ruminants dans les processus de bioconversion et d'élimination des toxines.

La réduction des risques passe par un contrôle de la contamination fongique des végétaux résultant de la maîtrise des méthodes de culture, de récolte et de conservation, par des techniques d'élimination des toxines sur l'aliment contaminé, et par une réduction de leur biodisponibilité dans le tractus digestif des animaux par l'emploi d'adsorbants.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE .

ABDEL-WAHHAB M.A., NADA S.A. et AMRA H.A.: Effect of aluminosilicates and bentonite on aflatoxin-induced developmental toxicity in rat. *J. Appl. Toxicol.*, 1999

AFSSA : Agence française de sécurité sanitaire des aliments.2009. Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Rapport synthétique.

Alban GAUTHIER 2016 these Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé.

ANGENAULT J: 1993 La chimie: dictionnaire encyclopédique

ANSES : 2012 *Aspergillus flavus* et autres moisissures productrices d'aflatoxines

Auerbach, H., R.F.M. Maas., H.J.M. Pop Den Camp., A. Pol., J. Finkgremmels.1998. Biodegradation of aflatoxin B1 by bovine rumen microorganisms in vitro and its effects on rumen fermentation, *Revue de Médecine Vétérinaire.*, 149: p. 573.

Boudra H., Morgavi D-P., Galtier P., Michael-Doreau B. 2002. Occurrence of toxigenic fungi and mycotoxins in conserved forage : Significance and prevention. *9ème Rencontres Recherches Ruminants*,

Bouchet P, Guignard J-L, Pouchus Y-V (2ème édition) 7/2005. Les champignons, mycologie fondamentale et appliquée.

Brochard G, Le Bacle C. Mycotoxines en milieu de travail. I. Origine et propriétés toxiques des principales mycotoxines. Document pour le médecin du travail, DMT n°129, Septembre 2009.).

BOUCON Mathieu thèse 2016 LES MYCOTOXINES : DE LA VACHE LAITIÈRE AUX PRODUITS LAITIERS.

Borde I. La PCR, polymerase chain reaction, ou réaction de polymérisation en chaîne. Disponible sur : www.snv.jussieu.fr).

Castegnaro M, Pfohl-Leszkowicz A. Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans La sécurité alimentaire du consommateur. Lavoisier, Tec&Doc, 2002.

Codex alimentaire de la Prévention et Réduction de la Contamination des Produits de Consommation Humaine et Animale. 2012

CHARMLEY, L.L. et Trenholm, H.L. 2000. Les mycotoxines. Agence canadienne d'inspection des aliments. Produits animaux. Santé des animaux et production. Fiche de renseignement.

<http://www.inspection.gc.ca/francais/anima/feebet/quelnew/mycof.shtml>

Dorner J.W, Cole R.J, Diener U.L. The relationship of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*

Firmin S. 2011. Efficacité de détoxification de l'aflatoxine B1 et de l'ochratoxine A par un adsorbant organique : Evaluation par la balance d'excrétion et les paramètres toxicocinétiques chez le rat et la brebis laitière. Thèse de Doctorat. Université Blaise Pascal.

Friend SCE, Schiefer HB, Babiuk LA. – The effects of dietary T-2 toxin on acute Herpes Simplex Virus type 1 infection in mice. – *Vet Pathol.*, 1983b, 20 : 737-760

Galtier P. 1999. Biotransformation and fate of mycotoxins, *J. Toxicol.-ToxinReviews.*, 18,295-312.

Guerre. P., J.-D. Bailly., G. Benard., V. Burgat. 2000. Excrétion lactée des mycotoxines : quels risques pour le consommateur ?, *Revue Méd., Vét.*, 151, 1, 7-22.

Greatorax JC, Mantle PG. (1974) – Effect of rye ergot on the pregnant sheep – *J. Reprod. Fert.* 37, 33-41

Harvey RB, Kubena LF, Elissalde MH, Rottinghaus GE, Corrier DE. - Administration of ochratoxin A and T-2 toxin to growing swine. - *Am J Vet Res.*, 1994, 55 (12):1757-61

HUMPHREYS, D.J. (1988).- Nephrotoxins : Ochratoxin In : *Veterinary Toxicology*, 3rd edition, 294-295, 356p, edit : Bailliere Tindall, London (GBR)

Inge Vogt Engeland and al. (1998) – Effect of fungal alkaloids on the development of pregnancy and endocrine foetal-placental function in the goat – Animal Reproduction Science

Jard, Gwénaëlle. *Etude de différents modes d'élimination biologique de la zéaralénone, mycotoxine présente dans les céréales : Adsorption et Biotransformation.* PhD, Institut National Polytechnique de Toulouse, 2009

JEFCA – page consultée le 11 juin 2003 - T-2 and HT-2 toxins. -
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je06.htm>

KRIEK, N.P.J., T.S. KELLERMAN, and W.F.O. MARASAS,
A comparative study of the toxicity of Fusarium verticilloides (F. moniliforme) to horses, primates, pigs, sheep and rats. Onderspoort Journal of Veterinary Research, 1981. **48**: p. 129-131.

L bouton j caudriller Fiche sanitaire aflatoxine b1 :m1 disponible sur
(chrome-extension://mhjfbmdgcfjbbpaeojofohoefgiehjai/index.html).

Loken T. (1984) – Ergot meadow grass in Norway – chemical composition and toxicological effects in sheep – Nord. Vet. Med. 1984 Jul-Aug; 36(7-8):259-65

LOPEZ-GARCIA R., PARK D.L. et ZUBIAURE G.D. Procédés pour réduire la présence des mycotoxines dans les denrées alimentaire

Lopez et al. (1997) - Ergotism and photosensitization in Swine Produced by the Combined Ingestion of Claviceps purpurea Sclerotia and Ammi Majus Seeds – Journal of Veterinary Diagnostic Investigation

Mainka S, Dänicke S, Böhme H, Wolff J, Matthes S, Flachowsky G. (2005) – Comparative studies on the effects of ergot contaminated feed on performance and health of piglets and chickens, Archives of Animal Nutrition, 59:2, 81-98

Mannon J, Johnson E. Fungi down on the farm. New Sci, 1985.

Moreau C.1994 Moisissures toxiques dans l'alimentation

Olsen M, Jonsson N, Magan N, et al.Prevention of Ochratoxin A in Cereals.OTA PREV. Final Report. Quality of Life and Management of Living Resources, 2003.

OZPINARA, H., AUGONYTEB, G. & DROCHNERC, W. (1999).- Inactivation of ochratoxin in ruminal fluid with variation of pH-value and fermentation parameters in an in vitro system.- *Env. Tox. And Pharmacol.*, 7, 1-9.

Pavel Kalac.2010. The effects of silagefeeding on some sensory and health attributes of cow's milk: A review., doi:10.1016/j.foodchem..

P. GUERRE article :Intérêt des traitements des matières premières et de l'usage d'adsorbants lors d'une contamination des aliments du bétail par des mycotoxines.

Pfohl-Leszkowicz, A. 1999. Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque. Conseil supérieur d'hygiène publique de France, ed. T.EC et DOC

PHILLIPS T.D., KUBENA L.F., HARVEY R.B., TAYLOR D.R. et HEIDELBAUGH N.D. Hydrated sodium calcium aluminosilicate.

Pruild, C.2007. Les mycotoxines peuvent affaiblir les vaches laitières, *Réussir-Laitélevage.*, 209: p. 56.

Revue Méd. Vét., 2000, 151, 12, 1095-1106

RILEY, R.T., *Mechanistic interactions of mycotoxins : theoretical considerations.* Mycotoxins in agriculture and food safety ed. M. Dekker. 1998: New York

Tapia, M. O., A. F. Giordano, A. L. Soraci, C. A. Gonzalez, L. A. Denzoin, I. O. Ortega, W. Olson and M. J. Murphy (2006). "Toxic effects of patulin on sheep." *Journal of Animal and Veterinary Advances* 5(4): 271-276.

Trenholm HL, Hamilton RMG, Friend DW, Thompson BK, Hartin KE. – Feeding trials with vomitoxin (deoxynivalenol)-contaminated wheat : effects on swine, poultry and dairy cattle. – J. Am. Vet. Med .Ass., 1984, 185 (5) : 527-531.

Trenholm HL, Thompson BK, Hartin KE, Greenhalgh R, MacAllister AJ. – Ingestion of vomitoxin (deoxynivalenol)-contaminated wheat by nonlactating cows. – J. Dairy Sci., 1985, 68 : 1000-1005.

Upadhaya., SantiDevi., M. A. Park., Jong K. Ha. 2010. Mycotoxins and Their Biotransformation in the Rumen: A Review, *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 23(9):1250-1260.

Whitlow L-W., Hagler W-M-J. 2010. Mold and Mycotoxin Issues in DairyCattle Effects, Prevention and Treatment. Dairy July 19, 2010. North Carolina State University.

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

Zinedine A. 2004. Détermination des mycotoxines dans les aliments et étude de laréduction des aflatoxines par les bactéries lactiques isolées des ferments panaires traditionnels. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah.

Référence des images

Image01 : disponiblesur : <https://mycology.adelaide.edu.au/images/trichoderma.jpg>

Image 02 : disponible sur :https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn%3AANd9GcR7fi0GDhdhstmWzeez9pZHZpvPg3_Fo_dGNLJ1ajqcg2_0V08A&usqp=CAU

Image 03 : disponible sur : https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn%3AANd9GcSN681q4Y_IEXw_51-h7FxQ6GmVEsx1v-e_rxTjKnchiyabosRL&usqp=CAU

Image 04 : disponible sur

<https://trustmyscience.com/wp-content/uploads/2019/02/aspergillus-fumigatus-microscope-750x400.jpeg>.

Image 05 : <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/4f/Aspergillus.jpg>