

République Algérienne Démocratique
et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de master complémentaire
en sciences vétérinaire

Thème :

Recherche de l'aflatoxine B1 dans l'aliment
Concentré complet de bétail
Par la technique d'ELISA

Présenté par :

Achiche Salah

Soutenu le : 20 Décembre 2017

Les membres du jury :

Président	Mme Ben-Mahdi M.H	Professeur à ENSV. ESSAIA
Promoteur	Mr Mohammedi D.	Maitre de conférences A. à ENSV
Examineur1	Mme Yahiaoui F.	Maitre de conférences B. à ENSV
Examineur2	Mme Mohammedi S.	Maitre-assistant A. à ESSAIA

Année universitaire : 2016/2017

Remerciements

Je tiens d'abord à remercier Dieu, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce travail « **Dieu merci** » ;

J'exprime ma reconnaissance et ma profonde gratitude à **Monsieur Mohammedi Dahmane**, Maitre de conférences A de m'avoir accordé le privilège de m'encadrer.

Je remercie **Mme Meriem Hind Benmehdi**, professeur en pharmacologie et biotechnologie, Directrice du laboratoire de recherche « santé et production animal » à l'ENSV et Directrice de l'ESSAIA d'Alger d'avoir accepté d'être Président de Jury.

Je tiens également à exprimer mes sincères remerciements à **Mme Mohammedi Sarra** maitre-assistant A à l'ESSAIA pour sa présence durant la période de mon travail et d'avoir été examinatrice de ce travail.

J'dresse mes remerciements aussi à **Mlle Yahiaoui Fatima** maitre-de conférences B à l'ENSV pour m'avoir fait l'honneur de faire partie du Jury.

Et je remercie aussi tous ceux qui ont contribué à accomplir ce travail de près ou de loin

Sincères remerciements.

DEDICACES

A ma MERE qui aucun mot ne suffira à exprimer ma gratitude pour tous ce qu'elle m'a donné, sacrifié et enseigné d'autant d'amour et d'apprentissage.

A mon PERE qui sera toujours un modèle pour moi que je ne pourrai jamais remercier pour tous les sacrifices qu'il s'est donné pour moi et mes sœurs.

A mes sœurs : Sylia Et Dihia.

A Ma grande Mère, Setsiwachir.

Grand-père : jediMouhand.

A la mémoire de mon chère jedi Salah qui j'ai porté son Nom, setsi Zachour qui est partie assez tôt et que j'aimerais bien qu'elle soit vivante et voir ma réussite car elle a sacrifié beaucoup pour moi et setsithamouchth.

A mes ONCLES : DadaMouhand, Daoud, Idris, Khaled ; khayimouhand, Yazid, Seddik, et Menouar merci pour votre aide.

A mes tantes : khaltiAdouda ET Nana Zahra, Mariama, Saliha, Houa, Khlidja et Djamila que je remercie pour leur aide.

A mes cousins et cousines, qui sont nombreux Lahibarrek.

Aux deux familles : Achiche et Achir.

A ma camarade : Ferroudja avec qui j'ai apprécié chaque moment de travail et de dispute.

A mes amis : Ghilas, Yazid, Massi, Adel, Lyes, Aghiles, Jigouta, Amine ; mes amis d'enfance de mon village, CEMet Lycé, surtout mon ami proche qui j'ai apprécié mes 5ans d'étude avec Rahim sans oublier Rima, Rosa, Hanane, Cylia, Nacera, Massika et Katia.

A mon ami : Dr Ameziane Kamel qui ma aider et le remercie.

A HAMID et d'autres personnes de la bibliothèque pour tous leurs services.

Tous les profs du Primaire à l'université.

A une chère personne qui va se reconnaître un jour ouchallah.

Et à tous ceux qui ont contribué pour ce modeste travail, de près ou de loin.

SOMMAIRE

Remerciements et Dédicaces	
Liste des tableaux et des figures	
Abréviations et les symboles	
INTRODUCTION	1

Partie bibliographique

Chapitre I: mycotoxines et mycotoxinogénèse	3
1-Mycotoxines	3
2-Moisissures et mycotoxines dans la chaîne alimentaire	5
3-Mycotoxinogénèse	6
3.1 Généralités	6
3.2 Facteurs physiques	6
3.3 Facteurs chimiques	9
3.4 Facteurs biologiques	10
Chapitre II: Aflatoxines	12
1-Historique	12
2-Structure	12
3-Propriétés physico-chimiques	14
4-Moisissures productrices - Toxinogénèse	14
5-Toxicocinétique	15
Chapitre III: impact sanitaire et économique des aflatoxines et leur transfert dans les productions animales	18
1-Impact sanitaire	18
1.1 Toxicité	18
1.2 Aflatoxicose chez les ruminants	19
1.3 Mécanisme d'action	20
2- Impact économique	21
3- Transfert des aflatoxines dans les productions animales	22
3.1 Contamination des productions carnées	22
3.2 Contamination du lait et des produits laitiers	22

Chapitre IV: Prévention et détoxification des mycotoxines	23
1 – Prévention	23
1.1 Avant la récolte	23
1.2 Pendant la récolte.....	26
1.3 Après la récolte.....	27
1.4 À la transformation par les industriels.....	28
2- Méthodes de détoxification ou de décontamination des aliments	28
2.1 Traitements chimiques.....	28
2.2 Traitements physiques.....	29
2.3 Traitements biologiques.....	30

Partie expérimentale

1- Objectif	31
2- Matériel et méthodes	31
2.1 Echantillonnage.....	31
2.2 Extraction.....	32
2.2.1 Matériel d'extraction.....	32
2.2.2 Protocole d'extraction.....	33
2.3 Test ELISA.....	35
2.3.1 Matériel utilisé.....	35
2.3.2 Protocole d'ELISA.....	35
3-Résultats et discussion	38
3.1 Résultats.....	38
3.2 Discussion.....	39
Conclusions et perspectives	41
Références bibliographiques	

*Liste des tableaux
& des figures*

Liste des figures

Figure 01 : Les principales Aflatoxines (**Pfohl, 1999 ; Duttonet *al.*, 1985**).

Figure 02 : Structure générale des Aflatoxines.

Figure 03 : Voies de métabolisation et d'élimination de l'Aflatoxine B1 (**Kensler et al., 2003**).

Figure 04 : Protocole d'extraction (photos personnelles).

Figure 05 : Protocole d'ELISA (Schémas de Romer Labs).

Figure 06 : Photo de la programmation sur Excel.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales mycotoxines et moisissures productrices retrouvées en alimentation humaine et/ou animale (**Bennett et Klich, 2003**).

Tableau 02 : Composition des échantillons d'aliment prélevés.

Tableau 03 : Matériel et réactif utilisé pour l'extraction.

Tableau 04 : Teneur en aflatoxines B1 des 20 échantillons étudiés.

Abréviations et symboles

Symboles et abréviations :

%: Pourcent.

FAO: Food and Agriculture Organisation.

CPA: L'acide cyclopiazonique.

Aw: Activity of water.

°C: Degré Celsius.

pH: Pression hydrogène.

FB: La Fumonisine B1.

O2: Oxygène.

CO2: dioxyde de Carbone.

AF: Aflatoxine.

OTA: Ochratoxine A.

AFB1: Aflatoxine B1.

L: Litre

µL: Microlitre.

ml: Millilitre.

nm: Nano mitre.

ng: ano gramme.

µg: Microgramme.

Mg : Milligramme.

g: Gramme.

Kg: Kilogramme.

CIRC: Centre international de la recherche sur le cancer.

CDC: Centers for Disease Control and Prevention.

Ppb: Partie par billion.

ADN: Acide désoxyribonucléique.

CYP450: Cytochrome hépatique.

VHB: Hépatite virale B.

OGM: Organismes Génétiquement Modifiés.

DLC: Date limite de consommation.

DLUO: Date limite d'utilisation optimale.

UH: Ultra haute température.

CO : Oxyde de carbone.

USDA: United States Department of Agriculture.

AOAC: Association of Official Analytical Chemists.

GIPSA: Grain Inspection, Packers and Stockyards Administration.

< : Inférieur.

> : Supérieur.

CE : Communauté Européenne.

N°: Numéro.

AFM1: Aflatoxine M1.

CMV: complément minéral vitaminé.

Introduction

Introduction

Introduction

Les premières mycotoxines ont été découvertes dans les années 1960 lors d'une intoxication massive en Grande-Bretagne ayant conduit à la mort de plus de 100 000 dindons qui avaient consommé du tourteau d'arachide contaminé par des aflatoxines. Ce fait a été à l'origine de la mise en évidence de la relation moisissure-toxine-pathologie permettant d'expliquer par la suite de nombreux cas de toxicoses chez les animaux d'élevage. Depuis, plus de 1000 métabolites de moisissures ont été identifiées (Cole *et al.*, 2003), mais heureusement une partie seulement des métabolites (environ une trentaine) possédant expérimentalement un effet biologique sont retrouvés à des niveaux appréciables comme contaminants naturels des aliments. (Boudra *et al.*, 2009).

La FAO (Food and Agriculture Organisation) estime qu'environ un quart des récoltes de la planète sont susceptibles d'être contaminées par les mycotoxines (Yiannikouris *et Jouany*, 2002). Les mycotoxines retiennent l'attention dans le monde entier en raison de leurs effets néfastes sur la santé de l'homme et de l'animal (effets hépatotoxiques, immunotoxiques, tératogènes et cancérogènes, etc.) (D'Mello *et McDonald*, 1997; Scudamore *et Livesey*, 1998). On estime que l'impact des mycotoxines sur l'industrie alimentaire et l'élevage représente un coût annuel d'environ 5 milliards de dollars pour les Etats-Unis et le Canada. En Europe, une potentielle perte économique est évaluée entre 800 et 1000 millions d'euros par la contamination de céréales en ochratoxine A (Olsen *et al.*, 2003)

En Afrique, aujourd'hui la contamination par les aflatoxines, est encore un problème de dimensions inconnues dans les terres agricoles, les entrepôts, les installations de transformation, et les produits alimentaires. Ce que nous savons, cependant, est que la consommation généralisée et chronique des aliments contaminés par l'aflatoxine continue d'être une grande menace à la santé humaine et animale. On constate aussi que les producteurs et les commerçants subissent des pertes économiques importantes en raison des niveaux élevés à la contamination par les aflatoxines dans les céréales et les légumineuses sont également importantes.

L'Algérie, pays importateur de produits en grains, dispose très peu de laboratoires utilisant en routine le dosage des mycotoxines, n'applique pas régulièrement au niveau des ports stratégiques les diverses mesures préventives ou procédures de surveillance, donc la contamination des matières premières et des aliments par les mycotoxines est un risque potentiel.

Introduction

Pour cela, ce présent travail a pour but de déterminer la concentration de l'**aflatoxine B1** dans l'aliment de bétail (bovins et ovins) et la comparer aux normes internationales.

Partie Bibliographique

Partie bibliographique

Chapitre 1 : mycotoxines et mycotoxinogénèse

1-Mycotoxines

Le terme mycotoxine vient du grec «mycos» qui signifie champignon et du latin «toxicum» qui signifie poison. Il désigne des métabolites secondaires sécrétés par des moisissures appartenant principalement aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (tableau 1) naturellement présentes dans l'air ambiant, le sol et sur les cultures (**Yiannikouris et Jouany, 2002**).

Les mycotoxines sont considérées comme faisant partie des contaminants alimentaires les plus significatifs en termes d'impact sur la santé publique, la sécurité alimentaire et l'économie de nombreux pays (**Steyn, 1995 ; Pitt et al, 2000**). Elles sont produites sur une large variété de denrées alimentaires avant, pendant et après récolte. Elles affectent de nombreux produits agricoles, dont les céréales, les fruits secs, les noix, les grains de café, raisin et les graines oléagineuses (**D'Mello et McDonald, 1997 ; Scudamore et Livesey, 1998**), qui sont des substrats très sensibles à la contamination par les moisissures et à la production de mycotoxines. La contamination des produits par les mycotoxines se réalise lorsqu'un ensemble de conditions environnementales au champ, ainsi que des procédés mal maîtrisés de récolte, de stockage, et de transformation sont réunies. En raison de la diversité de leurs effets toxiques et de leurs propriétés synergiques, les mycotoxines présentent un grave risque pour le consommateur d'aliments contaminés (**Yiannikouris et Jouany, 2002**).

Partie bibliographique

Mycotoxines	Champignons producteurs	Denrées alimentaires
Aflatoxines B1, B2, G1 et G2	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i> , <i>A. bombycis</i> , <i>A. pseudotamarii</i> , et <i>A. ochraceoroseus</i>	Arachides, céréales, graines de coton, épices, fruits, etc.
Ochratoxines A, B et C	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>A. westerdijkiae</i> , <i>A. carbonarius</i> , <i>A. niger</i> , <i>Penicillium viridicatum</i> , <i>P. verrucosum</i> et <i>P. nord</i>	Légumes, céréales et graines de café, fromages, poissons, viandes, etc.
Zéaralénone	<i>Fusarium graminearum</i> et <i>F. sporotrichoides</i>	Maïs, blé, orge, etc.
Fumonisines	<i>Fusarium moniliforme</i>	Maïs et autres céréales.
Trichothécènes	<i>Fusarium spp.</i>	Maïs et blé.
Patuline	<i>Aspergillus spp.</i> et <i>Penicillium spp.</i>	Fruits (pommes, prunes, pêches, poires, abricots).
Citrinine	<i>Penicillium rubrum</i> , <i>P. purpurogenum</i> , <i>P. viridicatum</i> , <i>P. citrinum</i> <i>A. ochraceoroseus</i> .	Orge, blé, riz, soja et seigle.

Tableau 1 : Principales mycotoxines et moisissures productrices retrouvées en alimentation humaine et/ou animale (**Bennett et Klich, 2003**).

Partie bibliographique

2-Les moisissures et mycotoxines dans la chaîne alimentaire

Les moisissures sont des champignons microscopiques filamenteux ubiquitaires (**Pitt et al., 2000**). Elles présentent des effets bénéfiques ou nuisibles dans plusieurs domaines (agriculture, biotechnologie, environnement, santé, etc.). Dans les milieux naturels, elles contribuent, avec d'autres microorganismes, à la biodégradation et au recyclage des matières organiques comme la litière ou le bois. Certaines sont utilisées dans l'alimentation, comme *Penicillium roquefortii* et *P. camembertii* pour la production de fromages, d'autres sont exploitées pour la production d'enzymes (par exemple les protéase et pectinase produites par *A. niger*), d'acides organiques (acide citrique et gluconique par des espèces d'*Aspergillus* et *Penicillium*), de médicaments (production de pénicilline par *P. chrysogenum*, de céphalosporine par *Cephalosporium acremonium*) (**Carlile et Watkinson, 1997 ; Kiffer et Morelet, 1997 ; Perry et al., 2004**). Environ 22% des antibiotiques identifiés et 40% des enzymes produits industriellement sont élaborés par les champignons filamenteux (**Berdy, 1995 ; Strohl, 1997**).

A côté de ces intérêts bénéfiques, les champignons sont capables de provoquer également d'importants dégâts, notamment dans le domaine agronomique. La contamination fongique des denrées alimentaires, destinées à l'homme ou à l'animal, est le principal dommage qui va entraîner de nombreux problèmes (**Pitt et al., 2000**). Or, la présence indésirable des moisissures modifie l'aspect des produits alimentaires, dû notamment à la production de pigments, comme par exemple un pigment foncé, la mélanine (**Bulter et Day, 1998**). Le développement de ces champignons sur les aliments peut leur donner des odeurs de moisi. Il y a donc une réduction quantitative et qualitative de la valeur alimentaire de la denrée et une baisse du rendement des récoltes. Les métabolites produits par ces champignons lors de leur croissance sur l'aliment sont aussi des éléments majeurs dans l'altération des denrées alimentaires. Des manifestations dans la qualité organoleptique (en modifiant le goût de la denrée par exemple) mais aussi de graves problèmes sanitaires surgissent, c'est le risque d'intoxication due à la présence de mycotoxines. Mais il faut signaler que la contamination des moisissures sur les aliments ne signifie pas obligatoirement la présence de mycotoxines. L'entrée des mycotoxines dans la chaîne alimentaire de l'homme s'effectue soit par des denrées consommées directement (arachides, pistaches, amandes...) soit indirectement par des produits dérivés (par ex. farine de céréales) à partir des quels sont élaborés des aliments finis (par ex. produits issus de la panification, de la biscuiterie, céréales pour petit-déjeuner). Comme elles sont peu métabolisées par les organismes vivants, les mycotoxines peuvent également se transmettre par des produits d'origine animale (lait et produits laitiers, abats,

Partie bibliographique

charcuterie...) si l'animal a consommé une nourriture elle-même contaminée par des mycotoxines. Le tableau 1 montre quelques exemples des denrées alimentaires contaminées. La FAO (Food and Agriculture Organisation) estime qu'environ un quart des récoltes de la planète est susceptible d'être contaminé par les mycotoxines. Une fois contaminées, les denrées alimentaires peuvent difficilement être débarrassées de ces toxines. Les procédés de conservation (stérilisation, pasteurisation, lyophilisation, congélation...), s'ils agissent sur les moisissures, ne détruisent pas ou très peu la plupart des mycotoxines.

3-Mycotoxinogénèse

3.1 Généralités

La mycotoxinogénèse correspond à l'ensemble des conditions nécessaires au processus de synthèse et de sécrétion des toxines fongiques dans l'environnement. La production de toxines et le développement fongique sont intimement liés. Dès lors, les facteurs capables d'influencer la croissance fongique joueront aussi un rôle sur la toxinogénèse. En revanche, les conditions idéales de toxinogénèse sont plus étroites que celles favorisant le développement fongique (Moreau, 1994).

L'apparition de toxines fongiques dans un milieu est d'autant plus complexe qu'une même espèce de moisissure a la faculté de synthétiser plusieurs substances différentes selon les conditions environnementales. C'est le cas d'*Aspergillus flavus* qui peut sécréter, entre autres, des aflatoxines, de l'acide cyclopiazonique (CPA) et de l'acide kojique. Inversement, une même toxine peut être produite par des espèces de moisissures différentes :

l'Ochratoxine A est à la fois produite par *Penicillium verrucosum* et *Aspergillus ochraceus*. La synthèse des mycotoxines n'est donc pas seulement influencée par des paramètres environnementaux mais aussi par la croissance d'une moisissure spécifique. Par conséquent, l'identification d'une espèce de moisissure sur un substrat ne permet pas de prédire avec certitude la présence d'une mycotoxine dans ce substrat. D'autre part, la résistance des toxines aux facteurs physiques est telle que l'absence de moisissures sur une denrée ne signifie pas obligatoirement que celle-ci est dépourvue de mycotoxines.

La toxinogénèse est un processus complexe qui n'est pas intégralement connu. La synthèse des toxines fongiques et la croissance fongique sont donc conditionnées par divers facteurs d'ordre physiques, chimiques et biologiques (D'Mello et al., 1997).

3.2 Facteurs physiques

- Activité de l'eau

L'activité de l'eau, symbolisée par le sigle A_w (pour *Activity of water*), est définie comme le rapport de la pression de vapeur d'eau d'un produit (p) sur la pression de vapeur de l'eau pure

Partie bibliographique

(p_0), à une température donnée (**Pit et Hoking, 1985**). Elle est à différencier de l'humidité absolue (teneur en eau) qui correspond à la masse d'eau du produit rapportée à la masse totale du produit.

En pratique, l'activité de l'eau reflète la quantité d'eau disponible dans une substance liquide ou solide. Elle permet de rendre compte de la quantité d'eau « libre », indispensable aux réactions biochimiques d'un micro-organisme. L' A_w permet de donner des informations importantes sur la stabilité physico-chimique d'un produit et sur son innocuité microbiologique.

La valeur de l'activité de l'eau s'établit de 0 à 1. Plus l' A_w est grand, plus la quantité d'eau disponible pour la croissance d'un micro-organisme est importante.

L' A_w requis pour la croissance d'une moisissure est inférieur à celui requis pour la mycotoxinogénèse. La présence d'une moisissure dans un aliment ne signifie donc pas obligatoirement que l'on y retrouvera des toxines fongiques. (**Pfohl, 1999**).

L'activité de l'eau optimale pour la plupart des espèces fongiques est comprise entre 0,85 et 0,99. Certaines espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium* ont la capacité de se multiplier à des A_w inférieurs à 0,75 et pour une température de 25°C (**Lesage et Kahagnier, 1998**). Elles font partie des espèces xérophiles que l'on retrouve dans les produits pauvres en eau (céréales, fruits secs...), notamment au moment de la phase de stockage. En revanche, quelques espèces de *Fusarium* exigent un A_w supérieur à 0,98 (**Castegnaro et Pfohl, 2002**). Il s'agit de moisissures de champs qui se développent sur les plantes endommagées ainsi que dans les milieux riches en eau.

-Température

La température est un facteur prépondérant de la croissance des micromycètes et donc de la production de toxines. Elle est intimement liée à l'activité de l'eau. De même que pour l' A_w , la température idéale de croissance d'un champignon ne correspond pas à celle de la production de la toxine.

De manière générale, elle est supérieure à la température optimale de la toxinogénèse. Pour *Penicillium viridicatum* (producteur d'Ochratoxine A), sa croissance a lieu pour une température comprise entre 0 et 31°C et pour un A_w de 0,95, alors que la synthèse d'Ochratoxine A n'est possible qu'à une température comprise entre 12 et 24°C (**Norholt et al., 1979**).

Trois types de moisissures se distinguent suivant leur température optimale de croissance :

Partie bibliographique

- **Les espèces cryophiles**, ou psychrophiles, se développent à des températures relativement basses, inférieures à 5°C. C'est le cas de *Cladosporium herbarum* qui peut se développer à des températures négatives.

- **Les espèces mésophiles** privilégient les températures allant de 5 à 35°C. La plupart des moisissures sont mésophiles, avec des températures idéales de croissance allant de 20 à 25°C. C'est notamment le cas de plusieurs espèces d'*Aspergillus* (**Botton et al., 1979**).

- **Les espèces thermophiles** : dont la croissance est optimale aux alentours de 35°C.

Par exemple : *Aspergillus flavus* peut continuer de se multiplier au-delà de 50°C (**Castegnaro et Pfohl, 2002**).

Il convient de souligner que la grande majorité des moisissures est sensible aux traitements thermiques (pasteurisation, cuisson), contrairement aux mycotoxines qui sont thermorésistantes. De plus, la température interfère sur l'intégrité et la conservation de la denrée, favorisant alors l'apparition de moisissures.

- **Lumière**

Bien que l'impact de la lumière n'ait pas été démontré sur la croissance des moisissures, il semblerait tout de même qu'elle intervienne sur la germination des spores, favorisant de ce fait la dissémination fongique (**Tabuc, 2007**). Certaines espèces ne peuvent pas se passer de lumière dis que d'autres la fuient : chez *Verticillium agricinum*, l'exposition prolongée aux rayons ultraviolets peut limiter la croissance voire provoquer la mort du mycélium.

3.3 Facteurs chimiques

- **Acidité du milieu - pH**

Le potentiel hydrogène (ou pH) reflète l'activité chimique des ions hydrogènes (protons) en solution. Il permet de déterminer si une solution est acide ou alcaline. L'échelle de pH est basée sur le pH de l'eau pure à 25°C :

- Elle est **neutre** lorsque son pH est égal 7,
- Elle est **basique** si le pH est supérieur à 7,
- Et elle est **acide** si le pH est inférieur à 7.

Les moisissures peuvent croître dans une gamme de pH allant de 3 à 8, leur pH optimal de croissance étant plutôt situé entre 5 et 6. Les aliments (en particulier les fruits et les légumes) ayant un pH inférieur à 6, se trouvent être des cibles privilégiées de l'infestation fongique.

À l'instar du couple température/*A_w*, l'intervalle de pH permettant une croissance fongique optimale est plus étendu que celui permettant la synthèse de toxines. Ainsi, la Fumonisine B1 (FB1) est la plus produite à pH = 3,7, tandis que la croissance de sa moisissure productrice, *Fusarium proliferatum*, s'effectue préférentiellement à pH = 5,6 (**Blackwell et al., 1994**).

Partie bibliographique

- Composition gazeuse

La disposition O₂/CO₂ est une ressource sélective pour la croissance fongique. La majeure partie des micromycètes est aérobie, c'est-à-dire que ces champignons ont besoin d'oxygène, sous la forme de dioxygène (O₂), pour pouvoir se développer. Certains peuvent vivre en anaérobiose, comme *Byssochlamys nivea*, que l'on retrouvera plus en profondeur dans les denrées car moins exigeante (**Paster et Bullerma, 1998**).

La production de toxines fongiques est plus sensible à la variation de composition gazeuse que la croissance fongique. Une concentration en O₂ inférieure à 1 % et des concentrations élevées de dioxyde de carbone (CO₂) empêchent la synthèse de toxines champignon. Ainsi, l'absence d'oxygène rend indécélable la synthèse de Fumonisine B1.

- Nature du substrat

Les nutriments, dont les champignons ont besoin pour pousser, sont élémentaires et proviennent de matières organiques en décomposition. Les enzymes catabolisent le substrat pour former les nutriments requis, qui seront ensuite absorbés au travers des membranes cellulaires des moisissures. Ces molécules sont des sucres simples, des fractions d'amidon, des peptides et des substances carbonées (comme les acides aminés). Les moisissures ne sont pas capables de proliférer sur n'importe quel substrat (**Madhysta et al., 1990**). Dans certaines conditions, elles peuvent se développer sur des matières inorganiques (polymères, métaux), à condition que celles-ci présentent des résidus de matières organiques.

La toxigenèse dépend fortement de la composition chimique du substrat sur lequel le champignon prolifère. Par exemple, l'acide phytique (souvent présent dans les céréales) diminue la synthèse d'Aflatoxines (AF) par *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus flavus*.

À l'inverse, certains acides aminés (comme la proline) stimulent cette production (**Payne et Hagler, 1983**).

- Traitement chimique du milieu

L'action des pesticides est intéressante puisqu'ils sont abondamment utilisés dans l'industrie agro-alimentaire pour la conservation des aliments et le contrôle de l'apparition de maladies végétales. S'ils sont utilisés avec succès, le risque d'apparition de mycotoxines est faible.

Cependant, il a été démontré qu'à des concentrations sub-létales (proches de celles qui provoquent la mort), la synthèse de certaines mycotoxines est facilitée (**Moss et Frank, 1987**). Par exemple, la mauvaise maîtrise de l'utilisation d'acide propionique dans l'orge entraîne une augmentation de la production d'Aflatoxine B1 (AFB1), tandis que la croissance d'*Aspergillus flavus* est réduite (**Al-Hilli et Sith, 1979**). L'utilisation de fongicides doit donc être judicieuse.

Partie bibliographique

3.4 Facteurs biologiques

- Facteurs intrinsèques

Ce sont l'ensemble des facteurs qui sont directement liés à la souche elle-même, comme la vitesse de croissance, la capacité de dissémination, la dispersion des spores ou encore la longévité des spores. Ce sont tous les facteurs qui constituent le potentiel infectieux fongique influençant la synthèse de toxines dans un milieu déterminé (**Moreau, 1994**).

- Interactions entre micro-organismes

La présence simultanée, dans le même milieu, de micro-organismes dits de « concurrence » (bactéries ou champignons) perturbe le développement fongique et la synthèse de toxines. Cela s'explique par la possible destruction de la toxine par une autre souche et par la compétition pour le substrat. Certains micro-organismes peuvent aussi modifier les conditions environnementales, les rendant ainsi défavorables pour la toxinogénèse (**Lacey, 1986**). De cette manière, il existe une compétition entre *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus flavus*. Lorsque que ces deux moisissures sont en présence, on observe une augmentation de la production d'aflatoxines, tandis que les ochratoxines sont peu sécrétées voire totalement absentes. Ce phénomène s'explique par la monopolisation de la source de phénylalanine par *Aspergillus flavus*. L'OTA étant un analogue structural de cet acide aminé, elle ne peut alors plus être synthétisée (**Bouraima et al., 1993**).

- Présence d'acariens et insectes

Insectes et acariens sont des vecteurs de dissémination de spores de moisissures, qu'ils introduisent à l'intérieur du grain par les dommages qu'ils créent. Une infestation par les insectes (asticots, larves de coléoptères) favorise la prolifération de micromycètes ainsi que la production de toxines (**Farrar et Davis, 1991**). Les insectes détruisent l'enveloppe extérieure des grains, facilitant ainsi la pénétration de la souche à l'intérieur de la graine. Les acariens, vivant sur les céréales atteintes, récupèrent et transportent les spores de champignons sur leur corps et également dans leur tube digestif et déjections. Par conséquent, la contamination des grains sains se produit lorsque des acariens arrivent en contact avec ces grains. Ils interviennent aussi bien avant la récolte qu'au cours de la conservation. Il convient de noter que les oiseaux et les rongeurs interfèrent de manière similaire. Ainsi, l'infestation de l'arachide, du coton et du maïs, par *Aspergillus flavus* (producteur de l'AFB1) avant la récolte, est souvent liée à l'agression du végétal par des insectes (**Le Bars, 1998**).

-Pratiques agricoles

Les pratiques telles que le labourage, la rotation des cultures et l'alternance de fongicides participent à rompre le cycle de vie des organismes nuisibles, souvent très spécifiques (**Lis et**

Partie bibliographique

Deep, 1991). Les mesures de stockage jouent également un rôle dans le possible développement des toxines fongiques.

Partie bibliographique

Chapitre 2 : les aflatoxines

1-Historique

La « maladie X du dindon », qui a sévi en Angleterre au début des années 1960, a permis de mettre en lumière l'existence des toxines de moisissures. Les Aflatoxines ont été isolées à partir de farines d'arachides, habituellement consommées par les volailles et contaminées par des souches d'*Aspergillus*. Le terme d'Aflatoxine (AF) a été attribué à ces toxines en référence à *Aspergillus flavus* (abrégé en *A. flavus*), premier champignon identifié comme étant responsable de la sécrétion de ces toxines (**Asao et al., 1963**).

2-Structure

Les Aflatoxines forment un groupe de 18 composés structurellement proches, dont six constituent les formes les plus couramment rencontrées dans les aliments (B1, B2, G1, G2, M1 et M2) (figure 01). Ce groupe de toxines est issu de la voie des polycétoacides.

Partie bibliographique

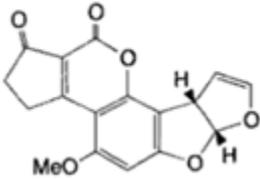
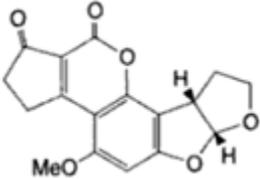
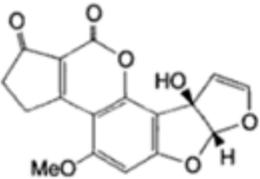
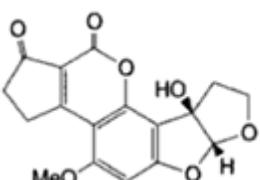
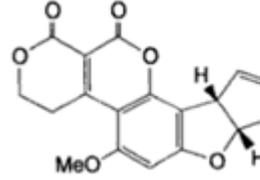
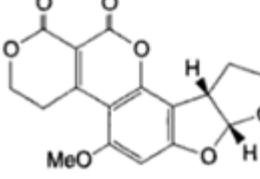
Structure chimique	Dénomination	Formule brute	Masse molaire (g/mol)
	Aflatoxine B₁	C₁₇H₁₂O₆	312,3
	Aflatoxine B₂	C₁₇H₁₄O₆	314,3
	Aflatoxine M₁	C₁₇H₁₂O₇	328,3
	Aflatoxine M₂	C₁₇H₁₄O₇	330,3
	Aflatoxine G₁	C₁₇H₁₂O₇	328,3
	Aflatoxine G₂	C₁₇H₁₄O₇	330,3

Figure 01 : Les principales Aflatoxines (Pfohl, 1999 ; Duttonet *al.*, 1985).

La structure générale des AF est constituée d'un cycle coumarinique et de deux furanes (figure 02), auxquels peuvent être accolés un cycle pentone (Aflatoxines B et M) ou un cycle lactone hexagonal (Aflatoxines G). Les structures diffèrent entre elles par la position de leurs radicaux sur le squelette de base.

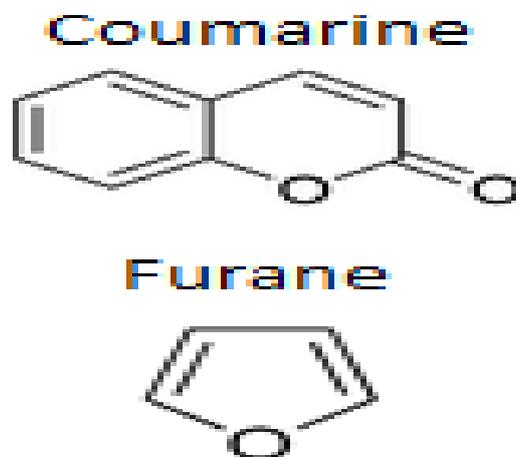


Figure 02 : Structure générale des Aflatoxines.

3-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 (Pfohl, 1999).

Sous lumière UV, les Aflatoxines B émettent de manière intense une fluorescence bleue, tandis que les Aflatoxines G émettent une fluorescence verte (Asao *et al.*, 1965). 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, 1999). Cette propriété les rend particulièrement résistantes aux traitements thermiques comme la congélation, la pasteurisation ou encore la stérilisation.

4-Moisissures productrices - Toxinogénèse

Les AF sont produites principalement par trois espèces appartenant au genre *Aspergillus* : *A.flavus*, *A. nomius* et *A. parasiticus* (Castegnaro et Pfohl, 2002). *Aspergillus flavus* produit essentiellement les Aflatoxines du groupe B (Wicklow et Shotwell, 1983) tandis

Partie bibliographique

qu'*Aspergillus parasiticus* sécrète les quatre Aflatoxines principales appartenant aux groupes B et G (**Dorner et al., 1984**). 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 (**Brochard et Bacle, 2009**).

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, 1999**).

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 Fumonisines (**IARC, 1993**).

5-Toxicocinétique

L'absorption des AF est possible par voie orale et trachéale. Elle est relativement rapide et s'effectue au niveau de l'intestin grêle, plus précisément au niveau du duodénum (**Kumagai, 1989**). Les toxines sont ensuite transportées dans l'organisme grâce au phénomène de fixation aux protéines plasmatiques, notamment à l'albumine.

La distribution de l'AFB1 a lieu principalement au niveau du foie *via* la veine porte. Elle s'effectue à partir du plasma sanguin vers les hépatocytes, par un processus de diffusion passive à travers les membranes cellulaires (**Muller et Petzinger, 1988**). La distribution au sein même de la cellule se fait essentiellement au niveau du noyau, du réticulum endoplasmique, du cytosol et des mitochondries (**Ewaskiewicz et al., 1991**).

Le métabolisme hépatique de l'AFB1 se produit en deux étapes. La phase I s'effectue par l'intermédiaire des cytochromes hépatiques P450 (CYP450). Sous l'action des CYP450, notamment le cytochrome P1A2 (CYP1A2), l'AFB1 donne par hydroxylation l'AFM1 et par époxydation l'AFB1-8,9-époxyde, le métabolite le plus toxique (figure 03).

Partie bibliographique

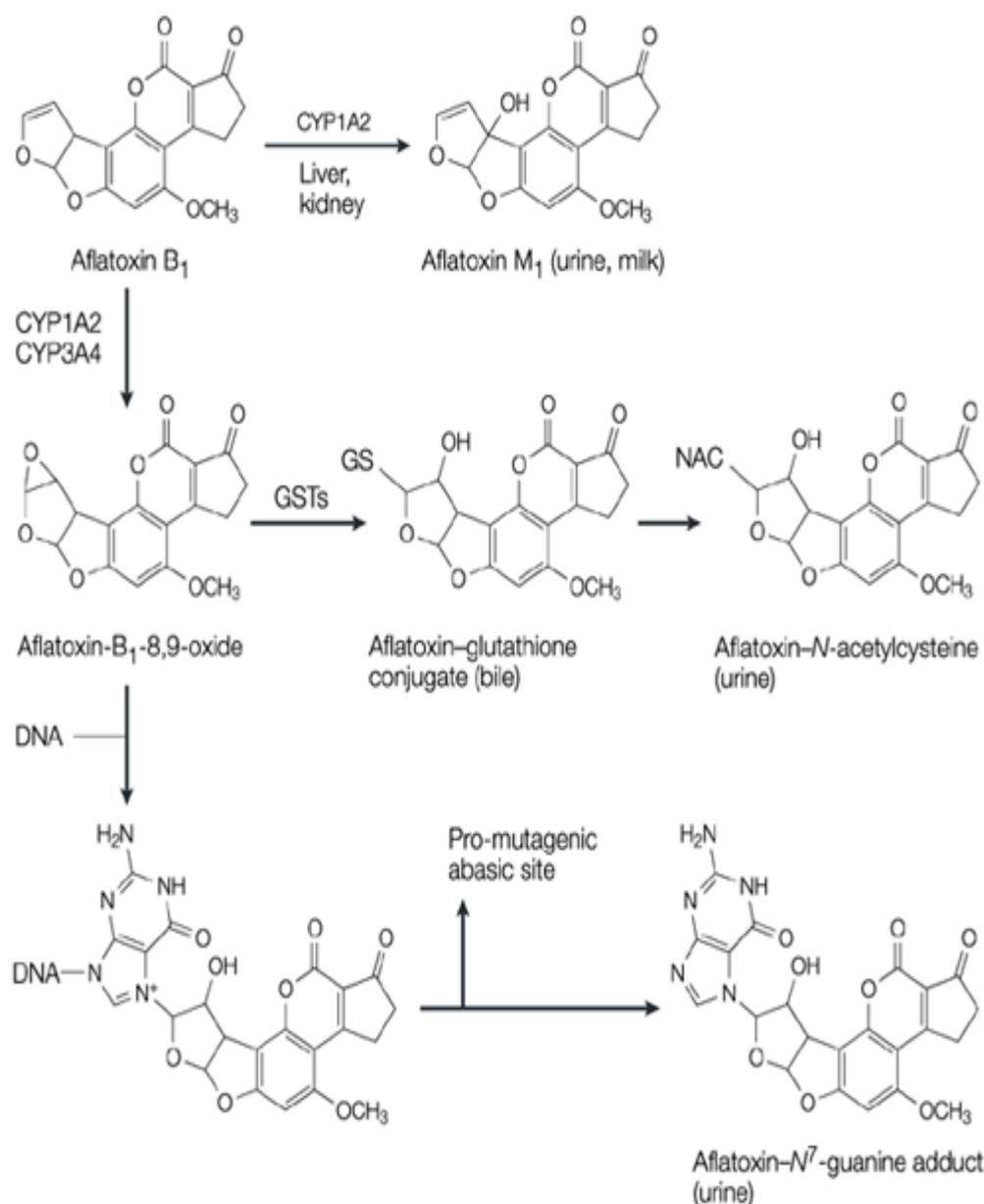


Figure 03 : Voies de métabolisation et d'élimination de l'Aflatoxine B₁ (Kensler et al., 2003).

L'Aflatoxicol, l'AFM₁, l'AFQ₁ et l'AFP₁ sont d'autres composés qui résultent du métabolisme de l'AFB₁ (Brochard et Backe, 2009).

L'AFB₁ n'est pas directement néfaste, c'est sa métabolisation qui active sa toxicité. Bien que le métabolisme hépatique soit prédominant, un métabolisme pulmonaire est possible par l'intermédiaire d'enzymes oxydantes : la lipo-oxygénase et la prostaglandine-H-synthétase (Brochard et Backe, 2009).

Partie bibliographique

L'élimination est principalement biliaire (figure 03). Elle représente environ 50 % de la dose excrétée chez la plupart des espèces animales, tandis que la voie urinaire représente 15 à 25% de la dose ingérée (**Wong et Height, 1980**). La détoxification de l'AFB1-8,9-époxyde s'effectue principalement par conjugaison au glutathion par le biais de la glutathion-S-transférase. Une partie de l'AFB1 est éliminée dans la bile, conjuguée au glutathion ou à l'acide glucuronique. Elle peut être excrétée dans les urines sous forme inchangée ou sous forme métabolisée (**Brochard et Bacle, 2001**) à 10 % de l'AFB1 restent liés de façon covalente aux protéines hépatiques plusieurs jours après l'ingestion (**Wong et Height, 1980**). Chez certains animaux, il semblerait que les Aflatoxines persistent dans le foie et le rein sous forme liée et non métabolisée (**Chen et al., 1984**).

Partie bibliographique

Chapitre 03 : impact sanitaire et économique des aflatoxines et leur transfert dans les productions animales

1-Impact sanitaire

1.1 Toxicité

L'AFB1 possède des propriétés cancérogènes, hépatotoxiques, tératogènes et immunotoxiques. Des groupes B et G, l'AFB1 est le composé présentant le potentiel toxique le plus important. L'Aflatoxine B1 est la seule mycotoxine ayant un rôle avéré dans l'apparition de certains cancers du foie (**Wogan, 2000**) C'est la raison pour laquelle elle a été déclarée agent cancérigène pour l'Homme par le CIRC.

Les effets d'une toxicité aiguë varient d'une espèce animale à l'autre suivant l'âge, le sexe, l'état général et le mode de contamination. Chez l'animal, l'intoxication aiguë se traduit par un malaise, une perte d'appétit, un ictère, de l'ascite puis par le décès rapide de l'individu. Le foie présente un aspect décoloré, un volume augmenté, des lésions nécrotiques ainsi que des foyers d'infiltration graisseuse. Des lésions rénales et une congestion des poumons sont aussi observables (**Brochard et Bacle, 2009**). Chez l'Homme, les cas de toxicité aiguë sont rares. Les derniers cas d'intoxication aiguë remontent aux débuts des années 2000 au Kenya, et ont été attribués à l'ingestion de maïs contaminés (**CDC, 2004**). L'exposition à des doses massives d'Aflatoxines entraîne un ensemble de symptômes ressemblant à une hépatite aiguë : vomissements, ictère, douleurs abdominales, hépatomégalie et œdèmes (**Brochard et Bacle, 2009**).

Dans le cas d'une intoxication chronique, le foie est la cible privilégiée des Aflatoxines. Elle est fréquemment observée chez les animaux d'élevage (volailles, porcs, ruminants...). La toxicité chronique se manifeste par une diminution de la prise alimentaire, une asthénie voire un coma dans les cas très sévères (**Brochard et Bacle, 2009**). De même que pour une intoxication aiguë, le foie est pâle et présente des lésions de fibrose et parfois de cirrhose. Outre son rôle dans l'apparition d'hépatocarcinomes, l'exposition chronique aux Aflatoxines semble être à l'origine de troubles de la reproduction et de malformations fœtales (**AFSSA, 2009**). Des études sur des souris ont mis en évidence des anomalies du nombre et de la morphologie des spermatozoïdes, ainsi que des malformations squelettiques et cardiaques chez les nouveaux nés (**Brochard et Bacle, 2009**). D'autre part, les effets immunosuppresseurs de l'AFB1 rendent les espèces animales sensibles aux infections

Partie bibliographique

opportunistes, par diminution de la réponse inflammatoire de l'organisme (**Brochard et Bacle, 2009**).

1.2 Aflatoxicose chez les Ruminants

1.2.1 Bovins

Ce sont des mycotoxines extrêmement toxiques, mutagènes et cancérigènes. Elles ont un effet immunodépresseur sur le bétail qui engendre une résistance moindre aux maladies et une moins bonne efficacité des vaccins sur le cheptel (**Diekman et Green, 1992**) Une aflatoxicose aiguë, possible chez le veau (**Pfohl, 1999**), engendre d'importantes lésions du foie induisant des congestions et des hémorragies. Elle est à l'origine d'accumulation d'acides gras dans le foie, le rein et le cœur mais aussi d'encéphalopathies et d'œdèmes (**Pfohl, 2000**). L'animal peut mourir en quelques heures ou quelques jours (**Anquetil et Al., 2004 ; Whitlow, 2001**).

Le plus fréquemment, les bovins sont atteints d'une toxicose chronique qui cible principalement le foie (**Yiannikouris et Jouany, 2002**). Le tableau clinique est alors une réduction de l'indice de conversion alimentaire, une baisse de la production laitière, un ictère et une baisse de l'appétit. Cependant le seul signe d'une aflatoxicose chronique peut être la réduction du rythme de croissance (**Raisbeck et al., 1991 ; Pier, 1992**).

Ces toxines fongiques agiraient comme des intercalants ADN qui, en se liant aux bases guanines, entraîneraient la mort de la cellule ou sa transformation en tumeur maligne (**Riley, 1998**). En règle générale, on considère que les aflatoxines sont toxique entre 300 et 700ppb chez les bovins de boucherie (**Whitlow, 2001**). En effet, des effets sur le gain pondéral et la consommation alimentaire surviennent chez les bovins avec une alimentation contenant 700ppb, un tel effet n'est pas retrouvé à 300ppb. Cependant, il semblerait qu'une toxicité des aflatoxines puisse apparaître à des doses plus faibles. Différentes études ont montré qu'à des doses inférieures à 300ppb, les aflatoxines avaient des effets néfastes sur les bovins. Par exemple, 100ppb d'aflatoxine est toxique pour les bovins de boucherie si on considère le poids du foie comme critère de toxicité, ou encore 120ppb d'aflatoxine consommés chaque jour par des vaches laitières en lactation laissées aux champs altèrent la fonction de reproduction et diminuent la production laitière (**Guthrie, 1979**).

La présence des aflatoxines dans les aliments de bétail, notamment l'AFB1 entraîne une diminution de leur qualité organoleptique et nutritive, une diminution des performances zootechnique des animaux de production, et l'altération de la santé animale (**Lamrani, 2009**). Un certain nombre d'effets indésirables peuvent être ainsi observés chez le ruminant : apparition de troubles cliniques, une diminution de la fertilité, la prédisposition aux infections, ainsi que des échecs de stratégies vaccinales et thérapeutiques (**Firmin, 2011**). L'aflatoxine

Partie bibliographique

B1 est reconnue comme étant l'un des plus puissants cancérigènes d'origine naturelle (AFSSA, 2009). De ce fait, l'aflatoxine B1 est capable d'exercer à la fois l'activation des proto-oncogènes ras et d'inactiver par mutation génique le gène p53 suppresseur de tumeurs (Galtier et al., 2006).

Des études ont montré que les aflatoxines ont un effet sur le gain de poids corporel chez les bovins de boucherie, suivant un régime alimentaire contenant 700ppb d'aflatoxine et que ces dernières seraient considérées comme toxiques même à des concentrations aussi faibles que 100ppb. La réduction du rythme de croissance peut être le seul indice d'une aflatoxicose ou d'une autre mycotoxicose chroniques.

Le mécanisme par lequel les aflatoxines ralentissent la croissance est probablement relié à des perturbations du métabolisme des protéines, des glucides et des lipides (Whitlow et Hagler, 2001). La santé des troupeaux laitiers ainsi que la production de lait peuvent être affectées par un régime alimentaire contaminé par les aflatoxines. C'est ainsi, la production du lait a été réduite quand des vaches laitières en lactation consommaient un aliment contenant 120 ppb d'aflatoxine. Lorsque l'aliment contaminé par l'aflatoxine a été substitué par un autre aliment exempt d'aflatoxine, la production de lait a augmenté de plus de 25% (Whitlow et Hagler, 2010).

1.2.2 Petits Ruminants

Ovins et caprins sont souvent considérés comme résistants aux aflatoxines, la DL50 de l'AFB1 par voie orale chez le mouton étant estimée à 2mg/kg (Patterson, 1973). Ainsi le nombre de cas rapportés pour lesquels un tableau clinique et lésionnel peut être corrélés à une alimentation contaminée en aflatoxines est faible (Abdasalam et al., 1989 ; Suliman et al., 1987). Des aflatoxicoses expérimentales ont été réalisées dans ces espèces (Aubrecht et Shalcop, 1972 ; Clerk et al., 1984 ; Miller et al., 1984), les effets observés sont très voisins de ceux décrits chez les bovins.

1.3 Mécanisme d'action

1.3.1 Formation d'adduits à l'ADN

Les effets cancérigènes et mutagènes de l'AFB1 sont dus à sa biotransformation par les CYP450, ayant pour résultat la formation d'AFB1-8,9-époxyde. L'AFB1-8,9-époxyde a une durée de vie courte mais est particulièrement réactif : il est considéré comme le principal métabolite génotoxique via sa fixation à l'ADN (AFSSA, 2009) L'AFB1-8,9-époxyde va se lier de manière covalente à l'ADN, l'ARN et les protéines. Il a une affinité particulière pour l'azote N7 de la guanine. La réaction d'addition de ces deux composés aboutit à la formation

Partie bibliographique

d'un adduit à l'ADN : le trans-8,9-dihydro-8 (7-guanyl)-9-hydroxy-AFB1. C'est la présence de cet adduit qui est à l'origine des mutations (**Joubrane, 2011**). La mutation la plus fréquemment observée est la transversion G en T, c'est-à-dire le remplacement d'une base nucléique guanine par une thymine (**Brochard et Bacle, 2009**). Les mutations les plus étudiées concernent les gènes suppresseurs de tumeurs (gène p53, oncogène *ras*) et les gènes codant pour la glutathion-S-transférase, enzyme permettant la détoxification de l'AFB1-8,9 époxyde (**Brochard et Bacle, 2009**).

Il existerait une relation entre cancer hépatique et infection simultanée par le virus de l'hépatite B (VHB). L'infection par le VHB aurait pour conséquence d'augmenter le métabolisme des AF et de diminuer l'activité de la glutathion-S-transférase, et par conséquent la détoxification des composés néfastes (**Joubrane, 2011**).

1.3.2 Métabolisme des protéines

L'effet immunosuppresseur semble être dû à l'altération de la synthèse des acides nucléiques et des protéines. Il a pour conséquences de provoquer une diminution de la prolifération, de la maturation et de la production des lymphocytes et cytokines (médiateurs de la signalisation cellulaire), une diminution de la capacité de phagocytose des macrophages, ainsi qu'une diminution des fonctions neutrophile et inflammatoire (**AFSSA, 2009**).

2- Impact économique (Stéphane Firmin, 2011)

La contamination des aliments pour animaux par les aflatoxines 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. Le développement fongique peut conduire à la destruction de la récolte lorsque le végétal est fortement attaqué et que 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 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. Une perte importante de rendement et de la valeur alimentaire des récoltes peut pousser les fermiers à l'achat d'aliments et d'ingrédients complémentaires, ou à la vente prématurée d'animaux en période de déficit alimentaire.

Les pertes indirectes sont causées par la production de mycotoxines indépendamment de la qualité des récoltes. La présence de mycotoxines sur les aliments peut entraîner une baisse du

Partie bibliographique

revenu de l'éleveur par la chute de la productivité des animaux de rente aux quelles s'ajoutent des frais de soins vétérinaires (vaccination, antibiothérapie). Des dépenses supplémentaires liées à la mise en place de réglementations (enquêtes et analyses de l'aliment), l'investissement en 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 pour animaux par les mycotoxines.

3- Transfert des aflatoxines dans les productions animales

La contamination par les mycotoxines génère des tensions sanitaires tout au long de la chaîne alimentaire, du producteur d'aliment pour animaux de ferme jusqu'aux produits finis consommés par l'homme. Cela est particulièrement vrai pour les aflatoxines dont le transfert dans le lait et les tissus comestibles comme le foie, le muscle les reins ont été rapportés dans des situations de contaminations naturelles (**Stéphane Firmin, 2011**).

3.1 La contamination des productions carnées

Les aflatoxines peuvent être détectées dans le foie, les reins et les muscles de volailles, de porc ou de ruminants en conditions expérimentales (**Helferich et al., 1986, Zaghini et al., 2005a, Zaghini et al., 2005b**). Leur présence sur le terrain n'est généralement constatée que dans les viandes de porc, de bovin et les charcuteries provenant de certains pays où la contamination des aliments pour animaux est fréquente à des niveaux élevés tel que l'Égypte, le Brésil, la Jordanie (**Herzallah, 2009, Refai et al., 2003, Sabino et al., 1996**).

3.2 La contamination du lait et des produits laitiers

Les aflatoxines peuvent être transférées de la ration animale contaminée au lait de mammifères. Contrairement aux autres types de productions, la contamination du lait est sous étroite surveillance et encadrée par une réglementation stricte vis-à-vis des aflatoxines. Des enquêtes sont réalisées régulièrement et montrent que la fréquence de la contamination des laits peut varier géographiquement (exploitations, pays) et temporellement (saison, année). Les taux d'AFM1 mesurés en Europe sont généralement conformes à la teneur réglementaire maximale de 50ng/L (**Boudra et al., 2007, Prandini et al., 2009**). Des taux d'AFM1 supérieurs aux taux réglementaires sont parfois retrouvés dans le lait brut provenant certains pays d'Europe du sud, comme l'Italie (**RASFF, 2003**).

Partie bibliographique

Chapitre 04 : Prévention et détoxification des mycotoxines (Alban Gauthier, 2016)

1 – Prévention

1.1 Avant la récolte

1.1.1 Choix du cultivar

La lutte contre l'apparition de moisissures au champ repose sur le choix de la variété de la plante cultivée. Période de floraison, vitesse de floraison, hauteur des tiges, résistance naturelle aux micromycètes, et adaptation aux conditions climatiques sont autant de facteurs permettant de prévenir une contamination fongique au champ. En effet, les cultivars arrivant rapidement à maturité permettront une récolte plus rapide. Cette récolte aura pour conséquence de diminuer l'humidité des grains, ainsi que d'éviter la progression d'une éventuelle maladie et une trop importante production de toxines. La variété de seigle *Gazelle* est par exemple moins contaminée par *Claviceps spp*, du fait de sa floraison rapide qui survient au printemps (**Boudra et al., 2007**). D'autre part, certaines variétés présentent des résistances naturelles vis-à-vis des moisissures de champs. Ces résistantes s'expriment de différentes façons :

- Résistance à l'infestation par le champignon.
- Résistance à la propagation de la maladie : dans ce cas, la maladie reste localisée.
- Dégradation des toxines, évitant ainsi leur accumulation dans la plante.

Il convient de citer en exemple les variétés de blé *Fundulea* et d'orge *Winthrop* qui sont des cultivars résistants au micromycètes du genre *Fusarium* (**Jeunot, 2005**).

1.1.2 Modifications génétiques

Elles permettent d'obtenir ou de sélectionner des plantes naturellement résistantes aux maladies fongiques, on parle alors d'Organismes Génétiquement Modifiés (OGM). Ces manipulations génétiques ont surtout pour ambition de modifier les gènes codant les enzymes impliquées dans la dégradation des parois cellulaires des champignons, à savoir les chitinases et glucanases.

Le second intérêt des manipulations génétiques est de permettre l'obtention de plantes résistantes aux insectes nuisibles. Le but est de diminuer les dommages engendrés par les nuisibles. En effet, les lésions créées par les insectes sont l'un des facteurs favorisant l'introduction et la croissance fongiques dans les grains. Le maïs Bt est un OGM obtenu par addition à son génome d'un gène, nommé cry1Ab, tiré du patrimoine génétique d'une bactérie : *Bacillus thuringiensis* (Bt). Ce gène code pour une protéine cristalline, toxique envers certains lépidoptères nuisibles (pyrales). Ces maïs Bt présenteraient des taux moins

Partie bibliographique

importants de Fumonisines que les maïs non Bt. Le genre *Fusarium* serait le plus atteint par cette manipulation. En ce qui concerne les Aflatoxines produites par *Aspergillus spp*, les résultats sont plus contrastés (**Boudra et al., 2007 ; Sinha, 1994**).

1.1.3 Utilisation de fongicides

Il est également possible d'avoir recours à des traitements fongicides pour prévenir l'apparition de moisissures. Toutefois, leur utilisation est délicate et leurs résultats aléatoires. En effet, les champignons vivant en symbiose avec la plante, la disparition d'une moisissure peut permettre le développement d'une autre moisissure insensible au fongicide utilisé.

Par exemple : les *Fusaria* sont les micromycètes les plus ciblés par les fongicides, car les plus présents dans les cultures avant la récolte. Les pesticides les plus efficaces contre *Fusarium spp* sont les Triazoles, comme le Tébuconazole ou le Metconazole. *Microdochium nivale* est quant à lui contrôlé par les composés de la famille des Strobilurines (Azostrobine). Lorsque qu'une culture est traitée contre *M. nivale* à l'aide de Strobilurines, ce dernier laisse alors place aux autres *Fusaria* toxigènes non contrôlés par ces composés (**Jeunot, 2005**). La bonne utilisation du fongicide passe donc par l'alternance, l'association et la diversification des composés employés. Leur utilisation doit avoir lieu entre l'épiaison et la floraison de la plante. Par ailleurs, aucun fongicide ne permet une éradication totale du champignon.

L'étroitesse de l'intervalle d'action des fongicides, leur efficacité relative, le rapport nocivité/bénéfice et leur coût font que les traitements fongicides ne sont pas toujours rentables par rapport à la perte de rendement imputable à l'infestation fongique (**Jeunot, 2005**).

1.1.4 Utilisation de souches fongiques moins toxigènes

Le principe est de combattre « le mal par le mal », en favorisant la compétition entre les moisissures de champs et d'autres micro-organismes peu, voire non toxigènes. Ces derniers, introduits dans le sol, vont pouvoir se développer grâce aux nutriments présents, au détriment des moisissures toxigènes. On parle de phénomène d'exclusion compétitive. Aux États-Unis, le procédé est mis en œuvre en inoculant des souches d'*Aspergillus flavus* et d'*Aspergillus parasiticus* dans des champs de coton et d'arachide. Une baisse significative des teneurs en Aflatoxines a été observée par rapport aux champs témoins non traités. Ces souches, labellisées biopesticides, prolongeraient aussi leur action au stockage (**Galtier et Draggaci, 2011**).

D'autres tests ont été réalisés sur la production d'Ergotamine et d'Acide lysergique par *Claviceps purpurea*. L'introduction de la souche *Sambucinum* de *Fusarium roseum* dans une culture de seigle a permis de rendre inactives, biologiquement et neurologiquement, les deux toxines (**Jeunot, 2005**).

Partie bibliographique

Il est possible d'optimiser la lutte contre la prolifération fongique en associant ces souches à des fongicides auxquels elles sont insensibles (**Galtier et Draggaci, 2011**).

1.1.5 Bonnes pratiques culturales

a. Traitements des semences

Certains procédés thermiques ont fait leur preuve. Le traitement des grains de blé à la chaleur (5 jours à 80°C) permet de détruire *Fusarium graminearum*, sans pour autant altérer les capacités de germination des grains (**Jeunot, 2005**).

D'autres méthodes mettent en œuvre des techniques mécaniques de séparation des grains sains des grains contaminés comme l'utilisation de tamis, la séparation par gravité et la flottation dans des solutions de chlorure de sodium à 20 %. Ces techniques sont surtout utilisées pour l'élimination des sclérotés de l'ergot dont l'aspect macroscopique est un avantage (**Corniere, 2014**). En ce qui concerne les traitements fongicides des semences de blé, ils ont aussi prouvé leur efficacité dans la lutte contre les sclérotés de *Claviceps spp.*

b. Période de semaison - Choix de la date des semis

Pour le maïs, le choix de la date des semis (et de la récolte) doit être le plus précoce possible. Il est nécessaire de prédire la période de floraison (phase la plus sensible à la contamination) afin d'esquiver le stress causé par les périodes de chaleur et de pluies, tels que les mois de juin et juillet (**Delos et al., 2014**).

c. Cultures intercalaires

De bons résultats ont été remarqués en semant du trèfle entre les rangs de semis de céréales : le trèfle empêcherait les spores de *Fusarium* d'atteindre les épis.

d. Rotation des cultures - Assolement

L'assolement est une technique culturale qui consiste à alterner, sur plusieurs années et sur plusieurs parcelles cultivables (soles), différentes cultures (légumineuses, céréales...) en fonction de leurs besoins spécifiques. La rotation peut ainsi être biennale, triennale ou quadriennale.

Cette technique a plusieurs avantages :

- Elle rompt le cycle de vie des organismes nuisibles.
- Elle rompt le cycle de développement des plantes adventices (« mauvaises herbes »).
- Elle permet d'alterner l'utilisation des fongicides, herbicides et insecticides, réduisant ainsi le risque d'apparition de résistances.
- Elle maintient, ou améliore, la qualité et la composition du sol.

Ainsi les cultures de betteraves, légumineuses et tournesol sont à privilégier avant la culture de blé pour réduire l'incidence des cas de fusarioses. Néanmoins, la rotation peut avoir des

Partie bibliographique

effets paradoxaux sur la culture des céréales à paille. En effet, les cultures précédentes de maïs et de sorgho augmentent le risque de fusarioses sur le blé, alors qu'elles sont recommandées pour prévenir l'apparition de *Claviceps spp* (Delos et al., 2014).

e. Gestion des résidus

Pour empêcher la contamination des cultures suivantes, il convient d'éliminer les résidus des végétaux récoltés.

Le **labour** est la méthode la plus couramment utilisée. Elle permet l'enfouissement des débris (à 10 ou 30 centimètres de la surface), limitant ainsi leur contact avec les futurs végétaux cultivés. Toutefois, comme la décomposition est restreinte, les débris peuvent remonter à la surface au moment du labour de l'année suivante. C'est une méthode qui a démontré son efficacité pour lutter contre les sclérotés de *Claviceps spp* et pour limiter les fusarioses du blé. La méthode du **brûlage** est une technique de régénération des sols qui consiste à détruire par le feu les éventuels résidus de végétaux cultivés ou de végétaux adventices (destruction des sclérotés).

f. Irrigation - Fertilisation du sol

La fertilisation du milieu de culture, via les engrais, permet un apport en minéraux (N, C, O, P, K...) indispensables au bon développement de la plante. Une irrigation et une nutrition minérale adaptées assurent une protection optimale contre les situations de stress que subit la plante (insectes, sécheresse...). L'irrigation reste le meilleur moyen pour la plante de se prémunir contre les attaques d'*Aspergilli*, qui affectionnent particulièrement les temps chauds et secs (Delos et al., 2014).

g. Gestion des ravageurs ou nuisibles

On entend par ravageur tout organisme animal (oiseaux, rongeurs, insectes...) susceptible de s'attaquer aux plantes cultivées ou aux récoltes stockées, et entraînant un préjudice économique. Leur présence au champ peut être à l'origine de blessures infligées aux plantes, facteurs favorisant la croissance fongique. La réduction des pertes agricoles s'appuie donc également sur la lutte contre ces nuisibles. Elle est fondée sur l'usage de pièges, de filets à arbres fruitiers, de canons agricoles ou encore d'insecticides.

1.2 Pendant la récolte

Le choix de la **période de récolte** est primordial. Elle doit être effectuée le plus tôt possible lors des périodes pluvieuses, de manière à éviter une éventuelle apparition de *Fusarium* qui se développent assez rapidement dans des conditions de forte humidité. Par ailleurs, la récolte devra être réalisée à maturité ou à prématurité afin de maintenir la récolte sèche. Ainsi, le

Partie bibliographique

meilleur moment pour la récolte de blé survient lorsque les grains contiennent entre 14 et 19 % d'humidité.

Du reste, un **réglage correct** des machines permet d'épargner l'intégrité des grains récoltés.

Il est conseillé de régler les moissonneuses-batteuses de façon à éliminer, par ventilation, les grains contaminés qui sont moins denses et plus légers que les grains sains. En revanche, ce procédé contribue à la contamination du champ. De plus, le **nettoyage des machines** limite la contamination du grain par les insectes et moisissures (**Delos et al., 2014**).

1.3 Après la récolte

1.3.1 Triage

Dans un premier temps, il est recommandé de **nettoyer** les grains récoltés avant la phase de stockage. Un lavage à l'eau permet d'éliminer grossièrement les débris de moisissures et les mycotoxines. Le nettoyage peut être complété par des **méthodes de séparation** des grains et corps étrangers divers (cailloux, terre, insectes...). La séparation (**Galtier et Draggaci, 2011**) peut être manuelle (maïs au Népal) ou mécanisée (arachide aux États-Unis). Pour cette dernière, l'opération est basée sur la différence de taille et de densité des débris (tamisage). Ces procédés sont généralement non-invasifs ; ils ne changent ni l'aspect ni la valeur nutritionnelle des produits manipulés.

1.3.2 Séchage

C'est une étape primordiale pour lutter contre les micromycètes. Le but est de maintenir un faible taux d'humidité dans les produits récoltés. L'étape de séchage est réalisée soit par ventilation sèche soit par ventilation de refroidissement, ce qui permet le ralentissement de la croissance des organismes fongiques. L'étape du séchage s'effectue à l'aide de séchoirs munis de ventilateurs. Cette étape peut être complétée par une maîtrise de l'atmosphère de séchage. Ainsi, une diminution des taux d'oxygène et d'azote, et une augmentation du taux de dioxyde de carbone auront pour conséquence un arrêt de la croissance fongique.

1.3.3 Stockage

Un bon stockage passe par le maintien d'une faible température ainsi que d'une faible humidité, impropres au cycle de vie de la plupart des moisissures et insectes. Comme pour le séchage, le stockage sous atmosphère contrôlée permet de réduire le développement des moisissures.

Les récoltes peuvent être stockées de deux manières :

- Dans des sacs, à l'air libre, ou entreposés à l'abri des conditions climatiques.
- En vrac dans des silos ou des cellules, préalablement nettoyés et désinfectés. Les silos doivent être étanches à l'humidité extérieure, et ventilés.

Partie bibliographique

Des traitements antifongiques et des agents conservateurs peuvent être utilisés à ce stade, comme les acides organiques (acétique, propionique, benzoïque). De par leur activité biostatique, ils n'ont d'action que sur les moisissures et non sur les toxines fongiques (Jeunot, 2005).

1.4 À la transformation par les industriels

1.4.1 Traitements thermiques

Par la chaleur

Le traitement des aliments par la chaleur est la technique de conservation de longue durée la plus efficace et la plus utilisée. Les traitements thermiques industriels sont efficaces essentiellement sur les germes (bactéries, virus, mycètes), et ont peu d'effets sur les toxines fongiques en raison de leur thermorésistance.

1.4.2 Élimination de l'eau

- **Le séchage** est une technique peu agressive et peu coûteuse qui consiste à éliminer, partiellement ou totalement, l'eau contenue dans le produit, et ceci afin d'éviter ou de réduire le développement des micro-organismes. Le séchage concerne de nombreuses denrées comme les fruits, les légumes, les plantes aromatiques, les champignons et les viandes. Ce procédé est réalisé à l'aide de séchoirs ou de fours.

- **Le salage** est une méthode de conservation qui s'effectue soit à sec, soit en solution saline (saumure). La salaison est surtout pratiquée pour la conservation des viandes et charcuteries.

1.4.3 Utilisation de conservateurs

Les conservateurs sont des additifs alimentaires dont l'adjonction aux aliments permet un allongement de la durée de conservation. Bien qu'ils contribuent à améliorer la sécurité alimentaire, leur utilisation reste controversée. Ils sont de plusieurs types :

- **Les conservateurs organiques** : acides gras (acide benzoïque, acide citrique, acide sorbique...) et leurs sels. Ils sont caractérisés par un pouvoir antifongique et antimicrobien. On les retrouve dans les boissons sans alcool, les fruits confits, les sauces, etc.

2. Méthodes de détoxification ou de décontamination des aliments

2.1 Traitements chimiques

Les méthodes chimiques ont à l'origine été développées surtout pour lutter contre les Aflatoxines. Utilisées seules, elles ne sont pas suffisamment efficaces. Elles ne sont que complémentaires des bonnes pratiques de culture et de stockage, ainsi que des méthodes de décontamination physiques. Elles sont principalement mises en œuvre, après la récolte, dans la décontamination des denrées destinées à l'alimentation animale.

Partie bibliographique

L'ammonisation ou ammoniation est le procédé le plus utilisé pour la détoxification des denrées contaminées (en particulier le maïs) par les Aflatoxines et les Fumonisines, notamment la FB1. Son effet est potentialisé par les hautes températures et hautes pressions (Pfohl, 1999). Il existe de nombreux autres procédés de décontamination chimique faisant intervenir des réactions acido-basiques (soude), d'oxydation (ozone, peroxyde d'hydrogène), de réduction (bisulfites), etc. (Pfohl, 1999).

2.2 Traitements physiques

2.2.1 Irradiation - Ionisation

L'irradiation consiste à soumettre l'aliment à des rayonnements ionisants (faisceaux d'électrons, rayons γ) dans le but de dénaturer les toxines et micro-organismes qu'il contient. Bien qu'elle améliore nettement la durée de conservation, elle a comme inconvénient majeur de détruire les nutriments et vitamines contenus dans les denrées. Par ailleurs, c'est une méthode controversée à cause de la création de radicaux libres qu'elle implique (les radicaux libres sont soupçonnés être cancérogènes et accélérateurs du vieillissement cellulaire).

2.2.2 Inactivation thermique

En raison de la thermorésistance des mycotoxines, les procédés thermiques ne suffisent pas à les détruire totalement. La désactivation thermique peut être améliorée par l'ajout d'éléments permettant la dégradation chimique d'une toxine, ou par la modification de certains facteurs tels que le pH et l'humidité (Pfohl, 1999). Le traitement par la chaleur est surtout efficace sur la prolifération fongique, mais peu sur les mycotoxines. Par exemple : pour diminuer de 76 % le taux d'OTA contenue dans de la farine blanche, celle-ci doit être soumise pendant 40 minutes à une température de 250°C (Scott, 1984). L'OTA résiste donc très bien à la cuisson du pain.

2.2.3 Adsorption

C'est une technique qui consiste à incorporer des agents adsorbants dans les rations alimentaires des animaux, suspectées d'être contaminées. Ce sont des composés inertes d'un point de vue nutritionnel et chimique. Ils agissent en fixant et en séquestrant les mycotoxines dans la lumière intestinale, réduisant par conséquent leur biodisponibilité. Ils sont surtout utilisés dans l'alimentation des bovins, porcins et volailles. Il en existe plusieurs types (Gerre, 2000 ; David, 2001).

- **Les argiles simples** sont des adsorbants minéraux non spécifiques. En font partie, les bentonites, la zéolite ou encore le kaolin. La bentonite serait efficace sur les AF et la toxine T-2.

Partie bibliographique

- **Les argiles complexes** sont particulièrement actives sur les Aflatoxines, et inopérantes sur les TCT (Trichothécènes). Les aluminosilicates sont les chefs de file de ce groupe.
- **Le charbon actif** est utilisé pour la décontamination des AF, de la Patuline et de la toxine T-2.
- **Les résines échangeuses d'ions** sont intéressantes pour les AF, la ZEA, la toxine T-2 et l'OTA.

Mais par leur manque de sélectivité, les charbons et argiles sont à même de réduire aussi les fractions biodisponibles de nutriments, minéraux et vitamines.

2.3 Traitements biologiques

La décontamination biologique est la transformation enzymatique des mycotoxines en métabolites moins toxiques, par l'intermédiaire de nombreux micro-organismes (levures, champignons, bactéries). Ainsi, il a été observé que des souches de *Bacillus* et de *Lactobacillus* étaient en mesure de détoxifier partiellement les aliments contaminés par l'OTA '(Bohm et al., 2000). En ce qui concerne la fermentation, le procédé permettrait de décontaminer la bière (malt) en AFB1 à hauteur de 80 à 82 % (Chu F.S. et al., 2000).

Partie expérimentale

Partie expérimentale

Partie expérimentale

1. Objectif

Le présent travail expérimental a pour objectif, la détermination des teneurs en aflatoxine B1 dans l'aliment de bétail et la comparaison aux normes internationales. Cette recherche a été faite par la technique d'**ELISA** compétitive.

Cette étude a été réalisée au sein du Laboratoire de Recherche « Santé & Production Animales » à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

2. Matériel et méthodes

2.1 Echantillonnage

Les prélèvements ont été réalisés auprès des fermes et des industries de fabrication d'aliment de bétail dans différentes régions (est, centre et ouest) de nord de l'Algérie.

Vingt (20) échantillons d'aliment concentré complet pour bétail laitier ont été prélevés, transportés et analysés au sein du Laboratoire de Recherche « Santé & Production Animales » à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

La composition des échantillons d'aliment prélevés est présentée le Tableau N° 2 :

Partie expérimentale

Composition 01	Composition 02
 <p>Mais, Soja, CMV, Phosphate, Sel, Son et Calcaire.</p>	 <p>Tourteau de soja, maïs, Son de blé, Farine de blé, Mélasse de sucre, Carbonate de calcium, Bicarbonate de sodium, Huile de soja, Sel, Levure et CMV 1%</p>

Tableau 02 : Composition des échantillons d'aliment prélevés.

2.2 Extraction

2.2.1 Matériel d'extraction

Le tableau ci-dessous énumère le matériel utilisé lors de l'extraction.

Partie expérimentale

Matériel	Réactif
Robot broyeur	Méthanol
Tamis	Eau distillée
Balance	
Bouteilles stériles	
Béchers	
Papier filtre	
Eprouvette graduée	

Tableau 03 : Matériel et réactif utilisé pour l'extraction.

2.2.2 Protocole d'extraction

Les échantillons d'aliment concentré complets sont broyés finement et passés au tamis. Dans une bouteille stérile 20g de poudre d'aliment broyé sont mélangés à 70 ml de méthanol et 30 ml d'eau distillée et agités pendant 3 minutes. Le surnageant est filtré et recueilli.



Broyage



Tamisage



Partie expérimentale



Pesage



20g d'échantillon
dans des bouteilles
stériles



Ajout de 70ml de
méthanol et 30ml
d'eau distillée



Agitation

Partie expérimentale



Filtration du surnageant

Figure 04 : Protocole d'extraction (photos personnelles).

3.2 Test ELISA

3.2.1 Matériel utilisé

- **Kit ELISA** contient : les standards, le conjugué, le substrat, la stop solution et une plaque à puits revêtus d'anticorps
- Puits de dilutions, micropipette et embouts.

3.2.2 Protocole d'ELISA

Les kits **AgraQuant**[®] sont des **tests quantitatifs** ELISA (dosage immunoenzymatique) précis et fiables ayant une validation officielle par l'AOAC et l'USDA-GIPSA

USDA (United States Department of Agriculture).

AOAC (Association of Official Analytical Chemists).

GIPSA (Grain Inspection, Packers and Stockyards Administration).

Le kit ELISA utilisé, ELISA compétitive, a un seuil de détection de **2ppb** et une **gamme de détection de 2 à 50ppb**, fourni par **Lbvet** et fabriqué par **Romer Labs**. Le test d'ELISA a été réalisé selon le protocole suivant :

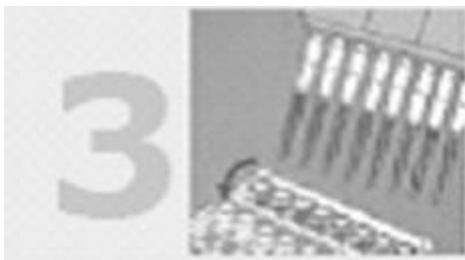
Partie expérimentale



Prendre avec une pipette **200 μ L** de solution du conjugué et le mettre dans des puits de dilution.



Ajouter **100 μ L** de chaque standard (0ppb, 2ppb, 5ppb, 20ppb, 50ppb) ou **100 μ L** de chaque échantillon dans les puits de dilution qui contiennent du conjugué avec changement des embouts après chaque utilisation.



Bien mélanger, transférer à partir de chaque puits de dilution **100 μ L** et verser dans la plaque à puits revêtus d'anticorps avec changement des embouts à chaque utilisation et incubé **15 minutes dans une chambre obscure.**



Laver **5 fois** avec l'eau distillée la plaque à anticorps.



Partie expérimentale



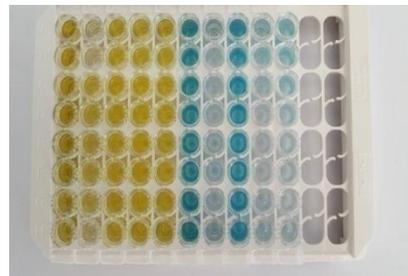
Essuyer la plaque.



Ajouter **100 μ L** du substrat dans les puits à anticorps et incuber **5 minutes dans une chambre obscure.**



Ajouter **100 μ L** du stop solution dans les puits à anticorps.



Virage de couleur du jaune (pas ou très peu d'aflatoxine) vers bleu foncé (teneur moyenne) ou bleu clair (teneur élevée). (Photo personnelle)



Lecture des absorbances à **450nm** et **630nm par un lecteur ELISA.**

Figure 05 : Protocole d'ELISA (Schémas de Romer Labs).

Partie expérimentale

3. Résultats et discussion

3.1 Résultats

Les teneurs sont obtenues par une programmation Excel fournie avec le kit ELISA, après avoir introduit les absorbances des standards et des échantillons.

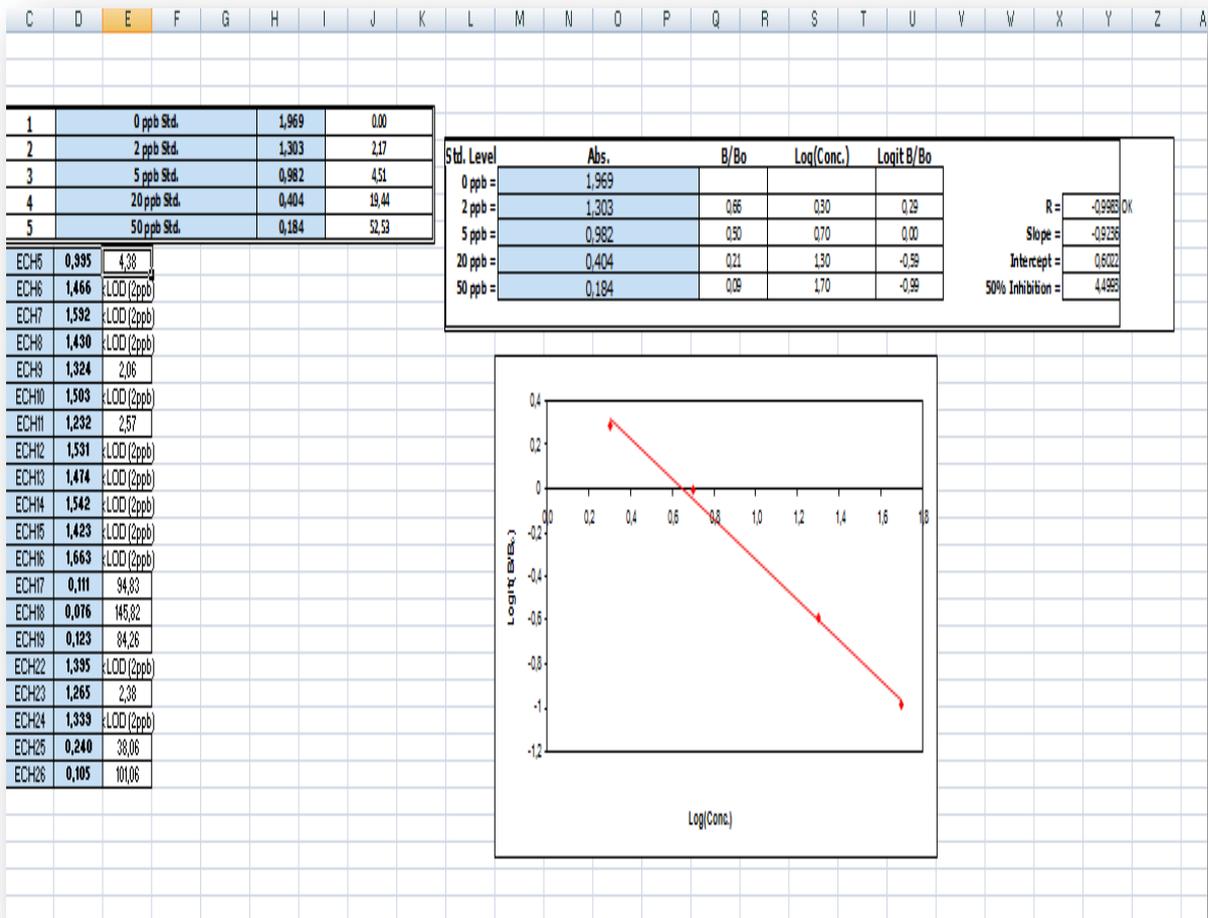


Figure 06 : Photo de la programmation sur Excel.

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau ci-joint :

Partie expérimentale

Teneurs (ppb)	0 à 2	2 à 5	5 à 20	20 à 50	>50
Nombre d'échantillons	11	4	0	1	4

Tableau 04 : Teneur en aflatoxines B1 des 20 échantillons étudiés.

3.2 Discussion

Selon les résultats obtenus **9 échantillons** sont contaminés par les aflatoxines c'est-à-dire (45%) de contamination et **5 échantillon/20, c'est-à-dire (25%)** ont une teneur qui dépasse la teneur maximale tolérée qui est fixée à **5ppb/kg** pour le bétail laitier selon le Règlement de la Communauté Européenne N° **2006/576/CE** de la commission du **17 août 2006** concernant les produits destinés à l'alimentation animale, cette réglementation reste plus strict sur la teneur maximale tolérée dans les aliments destinés au bétail laitier car, l'AFB1 peut être hydroxylée dans le foie et passée dans le lait sous forme de l'AFM1 qui a des effets néfastes sur la santé publique et toutes les deux sont des mycotoxines thermorésistantes, donc l'AFM1 peut se trouver même dans le lait pasteurisé.

Ces résultats obtenus peuvent être utilisés pour mettre la lumière sur l'une des causes de l'émergence des cancers malins : L'AFB1 a été déclarée agent cancérigène pour l'Homme par le CIRC, de l'hépatotoxicité, de l'effet immunotoxique et tératogène chez les êtres humains ainsi que les différentes maladies observées chez le bétail laitier tels que : les cancers, l'insuffisance hépatique, l'immunodépression qui engendre une résistance moindre aux maladies et une moins bonne efficacité des vaccins sur le cheptel, la baisse de production laitière, la baisse des performances de reproduction (fécondité et fertilité) et la baisse de l'indice de conversion alimentaire et même la mort des jeunes animaux par des lésions hépatiques aiguës induisant des congestions et des hémorragies.

Ces résultats aussi sont en accord avec **Park et al.** qui ont montré en 2002 la contamination de maïs provenant de la Corée de sud en AFB1 et leur co-occurrence avec d'autres mycotoxines tels que l'OTA et la FB 1.

Partie expérimentale

Ainsi, un rapport de **Biomin** (La menace mycotoxine mondiale 2017, 2017-04-24 (**BIOMIN World Mycotoxin Survey Q1 2017**)) estime qu'au niveau mondial, le niveau de risque est de 62% - ce qui signifie que presque deux tiers des échantillons contiennent au moins une mycotoxine à une concentration supérieure aux seuils de risque. A une échelle régionale, les niveaux de risque varient d'un niveau de risque faible à 46% dans le Moyen Orient à un niveau élevé à 80% en Asie.

Ces résultats soutiennent aussi les résultats obtenus par **Redouane-Salah Sara** en 2016 qui a étudié l'occurrence de l'AFM1 en Algérie dans le lait cru, le lait reconstitué et le lait en poudre avec taux de 11% de contamination ; étant donné que l'AFM1 est un métabolite issu du métabolisme de l'AFB1.

En plus de ces résultats obtenus à propos de la contamination d'aliments complets concentrés pour le bétail par l'aflatoxine B1, d'autres chercheurs étudiaient aussi la contamination de différentes céréales par d'autres mycotoxines :

Abdellah Zinedine montrait en 2004, au Maroc, un taux de contamination de 50% du maïs par la FB1 avec une teneur moyenne de 0.96mg/kg. Cette valeur dépasse largement la limite maximale (1 mg/kg) de FB1 recommandée par la réglementation Suisse dans le maïs (**Creppy, 2002**).

En Egypte, **El-Sayed et al.** en 2003 ont montré la contamination des échantillons de maïs et des produits à base du maïs par plusieurs mycotoxines avec une teneur entre 0,01 et 0,78mg/kg.

En Italie, **Brera et al.** en 2004 ont évalué le niveau de la contamination de différents échantillons de maïs destinés à l'alimentation humaine et animale par la FB1, les résultats ont montré la contamination des échantillons de maïs analysés par des taux variables allant de 0,39 à 9,56 mg /kg.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives :

Les résultats obtenus lors de l'étude de la teneur en aflatoxine B1 des aliments concentrés complets pour le bétail permet de conclure que **45%** des aliments concentrés destinés aux animaux de bétail sont contaminés par l'aflatoxine B1 et que 25% des échantillons dépassaient la teneur maximale tolérée qui est de **5ppb/kg** pour le bétail laitier selon le Règlement de la Communauté Européenne N° **2006/576/CE**, ce qui dépasse l'estimation de la **FAO** qui estimait il y a quelques années qu'environ un quart des récoltes de la planète sont susceptibles d'être contaminées par les mycotoxines (**Yiannikouris et Jouany, 2002**). En effet, avec le dérèglement climatique, les inondations et la sécheresse font que le taux de contamination est d'année en année plus élevé.

Ces contaminations pourraient expliquer les baisses de performances zootechniques ainsi que la récurrence de certaines pathologies bovines et l'absence ou la mauvaise réponse vaccinale des animaux vaccinés.

Pour cela, il est nécessaire que l'état Algérien installe des laboratoires d'analyse spécialisés dans la recherche de mycotoxines, interdise l'introduction de céréales ayant une teneur supérieure à la teneur maximale tolérée par la réglementation en vigueur et sensibilise les éleveurs pour qu'ils exigent aux industries d'aliments de bétail des aliments de bonne qualité qui contiennent des adsorbants et pour qu'ils respectent les conditions de stockage

*Références
Bibliographiques*

Référence :

A

Abdellah Zinedine, 2004, Détermination des mycotoxines dans les aliments et étude de la réduction des aflatoxines par les bactéries lactiques isolées des ferments lactiques panaires traditionnels, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté des Sciences Dhar El Mahrez.

Asao T, Buchi G, Abdelkader M.M, et al., 1963-Aflatoxins B and G. Am Chem.Soc. 85, 1963.pp 1706 -1707.

Alban Gauthier. Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé. Sciences pharmaceutiques. Université de bourdeaux.**2016.**

Asao T, Buchi G, Abdelkader M.M, et al., 1965-Structures of Aflatoxins B and G1. J Am. Chem. Soc.,1965. pp 87,822-826.

AFSSA, 2009. Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Rapport final, Maison Alfort, AFSSA, Mars 2009.
Ressource numérique disponible sur : <https://www.anses.fr>.

Abdalsalam E.B, EL Tayeb A.E, Nor Eldin A.A et Abdulmagid A.M: Aflatoxicosis in fattening sheep. Vet Rec., **1989**, pp 124, 481 -488.

Armbrecht BT .H et Shalkop W .T: The effects of DDT and aflatoxin priming on the acute aflatoxin toxicity in rams. Environ.Physiol. Bibchem., 1972, pp 2, 3-6.

Al-Hilli A.L, Smith J.E.1,979- Influence of propionic acid on growth and aflatoxin production by *Aspergillusflavus*. FEMS Microbiol.Lett, 6, 1979. pp. 367-370.

B

Berdy, J. 1995. Are *Actinomycetes* exhausted as a source of secondary metabolites? Proceedings of the Ninth Symposium on the Actinomycetes. pp. 13–34.

BIOMIN World Mycotoxin Survey Q1 2017

Butler, M. J., Day, A. W. 1998. Fungal melanins: a review. *Can. J. Microbiol.*, pp 44, 1115-1136.

Bennett J.W., Klich M., 2003.-Mycotoxins. Clinical Microbiology Review.

Botton B, Buton A, Fèvre M, et al.,1990- Moisissures utiles et nuisibles : importance industrielle. Paris :Masson 2ème édition, 1990. 442p.

Blackwell B.A, Miller J.D, Savard M.E., 1994 -Production of carbon 14-labeled fumonisin in liquid culture. *J Assoc. Off. Anal. Chem. Int*, 1994. pp. 506-511.

Bouraima Y, Ayi-Fanou L, Kora I, et al.,1993- Mise en évidence de la contamination des céréales par les aflatoxines et l'ochratoxine A au Bénin, dans : *Creppy E.E, Castegnaro M, Dirheimer G. (Eds) Humanochratoxicosis and its pathologies*, 1993. pp. 101-110.

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

Boudra, H., J. Barnouin, S. Dragacci, and D. P. Morgavi. 2007. Aflatoxin M1 and ochratoxin A in raw bulk milk from French dairy herds. *J. Dairy Sci.* **90(7)**: pp 3197-3201.

Boudra H, Barnouin J, Dragacci S, et al. Aflatoxin M1 and Ochratoxin A in raw bulk milk from french dairy herds. *J. of Dairy Science* , 2007. pp 90, 3197-3201.

Bohm J, Grajewski J, Asperger H, et al. Study on biodegradation of some A- and Btrichothecenes and ochratoxin A by use of probiotic microorganisms. *Mycotoxin Res.*16, 2000.

- **Boudra, H. 2009.** Mycotoxins : an insidiously menacing factor for the quality of forages and the performances of the ruminants. *Fourrages*:pp 199, 265-280.

Brera C, Debegnach F, Grossi S et Miraglia M. (2004) Effect of industrial processing on the distribution of fumonisin B1 in dry milling corn fractions. *J Food Prot*, 67(6):1261-1266.

C

Cole, R. J., B. B. Jarvis, and M. A. Schweikert. 2003. Second handbook of secondary fungal metabolites. New York.

Carlile, M.J., Watkinson, S.C. 1997.The fungi. Academic Press. San diego. CA.

Chen C, Pearson A.M, Coleman T.H, et al.,1984- Tissue deposition and clearance of aflatoxins from broiler chickens fed a contaminated diet. *Food. Chem. Toxic*, 1984. pp 22, 447-451.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). Outbreak of aflatoxin poisoning Eastern and Central Provinces, Kenya. , 2004. pp 53, 790–793.

Clark J.D, Hatch R.C, Miller D.M et Jain A.V: Caprine aflatoxicosis: experimental disease and clinical pathologic changes. *Am. J. Vet. Res.*, 1984, pp 45, 1132-1135.

Chu F.S, Fang C.C, Ashoor S.H, et al. Stability of aflatoxin B1 and ochratoxin A in brewing. *Appl. Microbiol*, 1975. Pp 29, 313-316.

Cornière A. Les alcaloïdes de l'ergot : mycotoxines ré-émergentes ? Toxinogénèse et toxicité pour l'Homme et les animaux. Sous la direction de Kolf-Claw M. Thèse de doctorat de l'Université de Toulouse, 2014. 99p.

Chernozemsky I.N, Stoyanov I.S, Petkova-Bocharova T.K, et al. Geographic correlation between the occurrence of endemic nephropathy and urinary tract tumours in Vratsa district, Bulgaria. *International Journal of Cancer*, 1977. pp 1-11, 19.

Creppy EE (2002) Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol Lett*, 127: 19-28.

D

D'Mello, J.P.F., Macdonald, A.M.C. 1997. Mycotoxins. *Animal Feed Science Technology*, pp 69, 155-166.

D'Mello J.P, Porter J.K, McDonald., 1997 *Fusarium Toxins*. Boca Raton : CRC Press, .pp. 287-301.

Dutton M. F, Ehrlich K, Bennett, J. W.,1985- Biosynthetic relationship among aflatoxins B1, B2, M1 and M2. *Applied and Environmental Microbiology*, 1985. pp 49, 1392–1398.

Dorner J.W, Cole R.J, Diener U.L.,1984- The relationship of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* with reference to production of aflatoxins and cyclopiazonic acid. *Mycopathologia*, 1984. pp 13-15,87.

E

Ewaskiewicz J.I, Delvin T.M, Chih J.J,1991- The *in vivo* disposition of aflatoxins B1 in rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1991. pp 179, 1095-1100.

El-SayedAM, Soher EA et Sahab AF (2003) Occurrence of certain mycotoxins in corn and corn-based products and thermostability of fumonisin B1 during processing. *Nahrung*, 47(4):222-225.

F

Farrar J.J, Davis R.M.,1991- Relationship among ear morphology, western flowers thrips and *Fusarium* ear rot of corn. *Physiopathology*, 1991. pp. 661-666.

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.

G

Galtier P, Draggaci S. Danger dans l'assiette. Quae Éditions, 2011. 184p.

Galtier P., Loiseau N., Oswald I-P., Puel O. 2006. Toxicologie des mycotoxines : dangers et risques en alimentation humaine et animale. *Bull. Acad. Vét.*, Tome 159 - N°1.

Guerre P. Intérêt des traitements des matières premières et de l'usage d'adsorbants lors d'une contamination du bétail par des mycotoxines. *Revue Méd. Vét.* 151, 2000. pp 1095-1106.

H

Helferich, W. G., R. L. Baldwin, and D. P. H. Hsieh. 1986. [C-14] Aflatoxin-B1 metabolism in lactating goats and rats. *J. Anim. Sci.* **62(3)**:pp 697-705.

Herzallah, S. M. 2009. Determination of aflatoxins in eggs, milk, meat and meat products using HPLC fluorescent and UV detectors. *Food Chem.* **114(3)**: pp 1141-1146.

I

IARC.,1993- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans. Volumen31 : Some food additives, feed additives and naturally occurring substances. IARC, Lyon, 1993.

J

Joubrane Karine.,2011- Evaluation du risque lié aux champignons pathogènes producteurs d'Ochratoxine A et Aflatoxine B1 au niveau de la production de blé au Liban. Sous la direction de Khoury A, Maroun R. Thèse de doctorat de l'Université Saint Joseph de Beyrouth, 2011. 231p. [Disponible sur : www.fs.usj.edu.lb](http://www.fs.usj.edu.lb)

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.

K

Kiffer, E., Morelet, M. 1997. Les Deutéromycètes. Classification et clés d'identification générique. INRA Editions.

Kensler T, Qian G.S, Chen J.G, et al.,2003-Molecular pathway of aflatoxin detoxification, *in : translational strategies for cancer prevention in liver. Nature Reviews cancer* 3, may 2003. pp. 321- 329. [Disponiblesur :www.nature.com](http://www.nature.com).

Kumagai S.,1989 Intestinal absorption and excretion of aflatoxins in rats. *Toxicol.Applic.Pharmacol*, 1989. pp. 88-97.

L

Lipps P.E, Deep I.W.,1991- Influence of tillage and crop rotation on yield, stalk rot and the recovery of *Fusarium* and *Trichoderma* spp in corn. *Plant Disease*. 1991. pp 828-833.

Le Bars J.,1998-Toxinogenesis as a function of the ecological conditions of the grain/microorganisms systems, *in* : Multon J.L. *Preservation and storage of grains. Seeds and their by-products*. New-York :Lavoisier Publishing, 1988. pp. 347-366.

Lacey J.,1986- Factors affecting mycotoxin production, *in* : Steyn P.S, Vleegaar R, Mycotoxins and phycotoxins. Pretoria, South Africa : 6th International IUPAC symposium on mycotoxins and phycotoxins. 1986.

Lesage-Meesen L, Cahagnier B.,1998- Mécanisme d'adaptation des micromycètes aux activités de l'eau réduite, *dans* : Cahagnier B. Moisissures des aliments peu hydratés. Paris, Londres, New-York :Tec&Doc, 1998. pp. 21-35.

M

Moreau C.,1994. Moisissures toxiques dans l'alimentation. Pologne : Masson Et Cie, 322p.

Madhyastha S.M, Marquadt R.R, Frolich A.A, et al.,1990- Effects of different cereal and oilseed substrates on the growth and production of toxins by *Aspergilluslutaceus* and *Penicilliumverrucosum*. *J. Agric. Food. Chem* 38, (1990). pp. 1506-1510.

Moss M.O, Franck M.,1987- Prevention effects of biocides and other agents on mycotoxin production, *in* Watson D.H, ed, *Toxicants in foods*. Chichester : Ellis Horwood, 1987. pp. 231-251.

Miller D.M, Clark J.D, Hatch R.C et Ain A.V: Caprine aflatoxicosis: serum electrophoresis and pathologic changes. Am. J. Vet. Res. 1984, pp 45, I 136-114 .

N

Norholt M.D, Van Egmond H.P, Paulsch W.E.,1979- Ochratoxin A production by some fungal species in relation to water activity and temperature. Journal of Food Protection, 1979. pp. 485-490.

O

Olsen, M., Jonsson, N., Magan, N., Banks, J., Fanelli, C., Rizzo, A., Haikar, A., Dobson, A., Frisvad, J., Holmes, S., Olkku, J., Persson, S. J., Börjesson, T. 2003. Prevention of Ochratoxin A in Cereals. OTA PREV. Final Report. Quality of Life and Management of Living Resources. Project No. QLK1-CT-1999-00433.

P

Park JW, Kim EK, Shon DH, Kim YB. 2002, Natural co-occurrence of aflatoxin B1, fumonisin B1 and ochratoxin A in barley and corn foods from Korea. *Food Addit Contam*, pp 1073-1080.

Payne G.A, Hagler W.M.,1983- Effect of specific amino acids on *Aspergillus flavus* in defined media. Appl. Environ. Microbiol 46, 1983, pp. 805-812.

Paster N, Bullerman L.B.,1988 Mould spoilage and mycotoxin formation in grain as controlled by physical means. Int. J. Food. Microbiol 7, 1988. pp. 257-265.

Pitt J.I, Hocking A.D.,1985 Fungi and food spoilage. Sydney : Academic Press, 1985.

Pitt, J.I., Basilio, J.C., Abarca, M.L., Lopez, C. 2000. Mycotoxins and toxigenic fungi. *Medical Mycology*, pp 38.

Patterson D.S.P: Metabolism as a factor in determining the toxic action of the aflatoxins in different animal species. *Food Cosmet. Toxicol.*, 1973, pp 11, 281 -294.

Prandini, A., G. Tansini, S. Sigolo, L. Filippi, M. Laporta, and G. Piva. 2009. On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food Chem. Toxicol.***47 (5):** pp 984-991.

R

Redouane-Salah Sara, 2016 Caractérisation mycologique des fourrages pour ruminants et recherche d'Aflatoxine M1 dans le lait cru de vache : étude comparative aux laits pasteurisé et lyophilisé, Université Frères Mentouri. Constantine.

Refai, M. K., Z. M. Niazi, N. H. Aziz, and N. E. M. Khafaga. 2003. Incidence of aflatoxin B1 in the Egyptian cured meat basterma and control by γ -irradiation. *Food / Nahrung***47(6):** pp 377-382.

Raiffaud C. Les brèves du réseau Alimentation et Technologies Agro-Alimentaires. Décembre 2015. Disponible sur : www.genie-alimentaire.fr.

S

Scudamore, K.A., Livesey, C.T. 1998. Occurrence and significance of mycotoxins in forage crops and silage, a review. *J. Sci. Food Agr.*, pp **77**, 1-7.

Strohl, W.R. 1997. Industrial antibiotics: today and the future. In WR (ed) *Biotechnology of antibiotics*, 2nd edn. Marcel Dekker. New York. pp 1-47.

Steyn, P. S. 1995. Mycotoxins, general view, chemistry and structure.

Stéphane Firmin.,2011- Efficacité de détoxification de l'aflatoxine B1 et de l'ochratoxine A par un adsorbant organique : évaluation par la balance d'excrétion et les paramètres

toxicocinétiques chez le rat et la brebis laitière. Sciences agricoles. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2011.

Sabino, M., A. Purchio, and T. V. Milanez. 1996. Survey of aflatoxins B-1, M(1) and aflatoxicol in poultry and swine tissues from farms located in the states of Rio Grande do Sul and Santa Catarina, Brazil. *Rev. Microbiol.* **27(3)**: pp 189-191.

Suliman H .B, Mohamed A.F, Awadelsied A et Shommein A.M: Acute mycotoxicosis in sheep: field cases. *Vet. Human Toxicol*, 1987, pp 29, 24-243.

Sinha A.K. The impact of insect pests on a toxin contaminant of stored wheat and maize *in* : *Proceedings of the 6th International Working Conference on Stored-product Protection*. UK, 1994.

Scott P.M. Effects of food processing on mycotoxins. *J. Food Prot*, 1984. pp 47, 489-499.

T

Tabuc Cristina., 2007- Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Sous la direction de Sesan Tatiana et Bailly Jean-Denis. Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 2007. 190p. Ressource numérique disponible sur : oatao.univ-toulouse.fr/7652/.

W

Wong Z.A, Hiesh D.P.H., 1980- The comparative metabolism and toxicokinetics of aflatoxins B1 in the monkey, rat and mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 1980. pp 55, 115-125.

Wogan, G. N., 2000- Impacts of chemicals on liver cancer risk. *Seminars in Cancer Biology*, 10 Mars 2000.

Whitlow L-W., Hagler W-M-J. 2001. La contamination des aliments par les mycotoxines : un facteur de stress additionnel pour les bovins laitiers. Conférence exposée dans le 25ème symposium sur les bovins laitiers CRAAQ–2001.

http://www.agrireseau.qc.ca/bovinslaitiers/Documents/2001_Whitlow.pdf.

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

Y

Yiannikouris , A., Jouany, J.P. 2002. Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. *Anim. Res.*, pp **51**, 81–99.

Z

Zaghini, A., G. Martelli, P. Roncada, M. Simioli, and L. Rizzi. 2005a.

Mannan oligosaccharides and aflatoxin B1 in feed for laying hens: Effects on egg quality, aflatoxins B1 and M1 residues in eggs, and aflatoxin B1 levels in liver. *Poult. Sci.* **84(6)**: pp 825-832.

Zaghini, A., L. Sardi, A. Altafini, and L. Rizzi. 2005b. Residues of aflatoxins B1 and M1 in different biological matrices of swine orally administered aflatoxin B1 and *Saccharomyces cerevisiae*. *Ital. J. Anim. Sci.* **4**: pp 488-490.

Résumé

Les mycotoxines sont considérées comme faisant partie des contaminants alimentaires les plus significatifs en termes d'impact sur la santé publique, la sécurité alimentaire et l'économie de nombreux pays. La présente étude a pour objectif, la détermination des teneurs en aflatoxine B1 dans l'aliment de bétail et la comparaison aux normes internationales. L'étude des teneurs en aflatoxine B1 par la technique immuno enzymatique ELISA a permis de montrer un taux de contamination de **45%** et qu'un taux de **25%** des échantillons dépassait le seuil de contamination permise fixée à **5ppb/kg** pour le bétail laitier selon le Règlement de la Communauté Européenne N° **2006/576/CE**. C'est pour cela nous observons l'émergence de nombreuses maladies humains et animales en Algérie et au monde entier.

Mots clés : Mycotoxines, aflatoxine B1, l'aliment de bétail, teneurs en aflatoxine, seuil de contamination.

Abstract

Mycotoxins are considered to be among the most significant food contaminants in terms of impact on public health, food security and the economy of many countries. The objective of this study is to determine levels of aflatoxin B1 in livestock feed and comparison with international standards. The study of aflatoxin B1 levels by enzyme immunoassay ELISA showed a contamination rate of **45%** and a **25%** rate of samples exceeded the permissible contamination threshold of 5ppb / kg for dairy cattle according to the European Community Regulation N ° **2006/576 / EC**. This is why we observe the emergence of many human and animal diseases in Algeria and around the world.

Key words: Mycotoxins, Aflatoxin B1, Livestock feed, Aflatoxin levels, Contamination threshold.

ملخص

تعتبر السموم الفطرية من أهم السموم الغذائية من حيث التأثير على الصحة العامة، الأمن الغذائي والاقتصاد في العديد من البلدان. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد مستويات الأفلاتوكسين ب1 في علف الماشية ومقارنتها بالمعايير الدولية. أظهرت دراسة مستويات الأفلاتوكسين ب1 بواسطة الإنزيم المناعي إليسا معدل تلوث 45% ومعدل 25% من العينات تجاوزت عتبة التلوث المسموح به من طرف لائحة الجماعة الأوروبية رقم 576/2006 لبقير الحلوب. هذا هو السبب في أننا نلاحظ ظهور العديد من الأمراض البشرية والحيوانية في الجزائر وحول العالم.

الكلمات المفتاحية : السموم الفطرية، الأفلاتوكسين، علف الماشية، مستويات الأفلاتوكسين، عتبة التلوث

Résumé

Les mycotoxines sont considérées comme faisant partie des contaminants alimentaires les plus significatifs en termes d'impact sur la santé publique, la sécurité alimentaire et l'économie de nombreux pays. La présente étude a pour objectif, la détermination des teneurs en aflatoxine B1 dans l'aliment de bétail et la comparaison aux normes internationales. L'étude des teneurs en aflatoxine B1 par la technique immuno enzymatique ELISA a permis de montrer un taux de contamination de **45%** et qu'un taux de **25%** des échantillons dépassait le seuil de contamination permise fixée à **5ppb/kg** pour le bétail laitier selon le Règlement de la Communauté Européenne N° **2006/576/CE**. C'est pour cela nous observons l'émergence de nombreuses maladies humains et animales en Algérie et au monde entier.

Mots clés : Mycotoxines, aflatoxine B1, l'aliment de bétail, teneurs en aflatoxine, seuil de contamination.

Abstract

Mycotoxins are considered to be among the most significant food contaminants in terms of impact on public health, food security and the economy of many countries. The objective of this study is to determine levels of aflatoxin B1 in livestock feed and comparison with international standards. The study of aflatoxin B1 levels by enzyme immunoassay ELISA showed a contamination rate of **45%** and a **25%** rate of samples exceeded the permissible contamination threshold of 5ppb / kg for dairy cattle according to the European Community Regulation N ° **2006/576 / EC**. This is why we observe the emergence of many human and animal diseases in Algeria and around the world.

Key words: Mycotoxins, Aflatoxin B1, Livestock feed, Aflatoxin levels, Contamination threshold.

ملخص

تعتبر السموم الفطرية من أهم السموم الغذائية من حيث التأثير على الصحة العامة، الأمن الغذائي والاقتصاد في العديد من البلدان. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد مستويات الأفلاتوكسين ب1 في علف الماشية ومقارنتها بالمعايير الدولية. أظهرت دراسة مستويات الأفلاتوكسين ب1 بواسطة الإنزيم المناعي إليسا معدل تلوث 45% ومعدل 25% من العينات تجاوزت عتبة التلوث المسموح به من طرف لائحة الجماعة الأوروبية رقم 576/2006 لبقر الحلوب. هذا هو السبب في أننا نلاحظ ظهور العديد من الأمراض البشرية والحيوانية في الجزائر وحول العالم.

الكلمات المفتاحية : السموم الفطرية، الأفلاتوكسين، علف الماشية، مستويات الأفلاتوكسين، عتبة التلوث