

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE-ALGER

المدرسة الوطنية للبيطرة - الجزائر

PROJET DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION

DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

THEME :

MYCOTOXICOSE AVIAIRE

Réalisé par :

Benyahia Neila

Sadout Ahmed

Soutenu le : 06 juillet 2011

Promoteur : M^r Mohammedi D.

Chargée de cours à l'ENSV

Présidente de jury : Mme Aissi.M

professeur

Examinatrice : Mme Djelout.B

maitre assistant class B

Examineur : M^r Zaouani .M

maitre assistant class B

Année universitaire 2010-2011

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les aspergillus producteur de mycotoxines p. 5
(Pitt, 2000).

Tableau 2 : DL50d'aflatoxine pour quelques animaux. P. 9
(Collet et Coll . , 1976 et Maselli , 1977)

Tableau 3 : Différents espèces d'aspergillus et penicillium productrice d'OTA P.17
(Holmberg et al., 1991)

Tableau 4 : DL50 d'Ochratoxine pour quelques animaux. P. 17

Tableau 5 : Méthodes de lutte contre la contamination. P. 32
(Narbonne et *al.*,1999).

Liste des figures

Figure 1 : Structure chimique d'aflatoxine A, B, G, M1 P.10
(asao et al, 1995)

Figure 2 : Biotransformation de l'aflatoxine (phase 1) P.13
(eatom et gallagher, 1994)

Figure 3 : Structure chimique de l'ochratoxine A. P.18
(hahler, 1998)

Figure 4 : Voie métabolique de l'ochratoxineA P.21
(Stormer et al, 1981)

Liste photo

Photo1 : Aspergillus flavus P.3

Photo2 : Aspergillus niger P.4

Photo3 : Aspergillus ochraceus P.4

Photo 4 : Penicillium verrucosum P.6

Photo 5 : Foie pale atrophié avec foyer hémorragiques P.15

Photo6 : Hémorragie hépatique P.15

Photo7 : Foie de poulet fibrosé avec foyer de nécrosé P.22

Photo 8 : rein de poulet hypertrophié. P.23

Liste des abréviations

A : Aspergillus

P : Penicillium

AF : Aflatoxine

AFB1: Aflatoxine B1

AFB2: Aflatoxine B2

AFG1: Aflatoxine G1

AW: Activité en eau

AND: Acide désoxyribonucléique

OTA : Ochratoxine A

OTB : Ochratoxine B

OTC : Ochratoxine C

CYP : Cytochrome P450

C1 : Carbone1

GTS : Glutathion S_Transférases.

GMG : Gain moyenne quotidien

PPM : Partie par million

PPB : Parti par billion

DL50 : Dose létale 50

Pka : détermine la force d'un acide (plus l'acide est fort plus pka est faible)

Kda: kilo dalton

PV: POID VIF

CCM : Chromatographie sur souche mince

CLHP : Chromatographie en phase liquide de haute performance

CPG : Chromatographie en phase gazeuse.

PCR : Polymérase chaîne réaction

RIA : Radio immuno assay

EIA : Enzyme immuni assay

IAC : Immuno affinity chromatographie

B : Bacille

CO₂ : Oxyde de carbone

O₂ : Oxygène

N₂ : Diazote

CIRC : Centre international de recherche contre le cancer

CSHA : Comite scientifique de l'alimentation humaine.

/ : Par

Kg : kilo gramme

Mg: Mili gramme

µg:Micro gramme

C°:Degré Celsius

%: Pour 100

ng: Nano gramme.

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer (acronyme anglais IARC)

Liste des Annexes

Liste des Tableau :

Tableau1 : Exemple de produits contaminés par des moisissures toxigènes.
(Boiron.P)

Tableau2 : Moisissures et mycotoxines retrouvées dans divers aliments.
(Boiron.P)

Tableau3 : Effets des principales mycotoxines et mécanisme d'actions cellulaires et moléculaires identifiés.
(AFSSA.Mars2009)

Tableau4 : Conditions d'intoxication par les aflatoxines chez les volailles.
(AFSSA.Mars2009)

Tableau5 : Calculs de contamination en l'aflatoxine B1 des rations destinées aux volailles.
(AFSSA.Mars2009)

Tableau6 : Calculs de contamination en OTA des rations destinées aux volailles.
(AFSSA.Mars2009)

Tableau7 : Efficacité comparée des méthodes physiques de décontamination.
(Guerre.P.2000)

Tableau8 : Efficacité comparée des méthodes chimiques de décontamination.
(Guerre.P.2000)

Liste des photos :

Photo 1 : Tache de sang dans le jaune d'œuf (OTA, Aflatoxine)

Photo 2 : Stéatose hépatique chez la volaille (Aflatoxose)

Photo3 : Nécrose buccale chez la dinde

photo4 : Nécrose buccale chez la volaille (AFB1,T-2,DAS ,Nivalénol)

Photo5 : Retard de croissance chez la volaille

Photo6 : atteinte des différentes mycotoxicose chez la volaille

Source des photos : www.Biomin.com

Résumé :

La grande diversité des matières premières utilisées en alimentation des volailles, conduit à une plus grande diversité des espèces fongiques pouvant les affecter et sécréter de nombreuses mycotoxines (variables dans leurs compositions chimiques, leurs mécanismes d'élaboration et leurs effets sur l'organisme animal) et pouvant constituer un véritable danger pour la santé humaine.

Le diagnostic, la conduite à tenir et la prévention des mycotoxicoses chez les volailles nécessitent le recours à plusieurs techniques et la collaboration des différents opérateurs du secteur agrovétérinaire.

Mots clés :

Mycotoxines; mycotoxicose; Production avicole ; Moisissures ; Champignons ; , santé résidus de mycotoxines; diagnostic, prévention.

Abstract:

The great diversity of the raw materials used in food of the poultries, conduit to a greater diversity of the fungic species which can affect them and secrete many mycotoxins (variable in their chemical compositions, their mechanisms of development and their effects on the animal organization) and being able to constitute a true danger to the human health.

The diagnosis, the action to be taken and the prevention of the mycotoxicoses in the poultries require the recourse to several techniques and the collaboration of the various operators of the sector agrovétérinaire.

Key words:

Mycotoxins; mycotoxicose; Avicolous production; Moulds; Mushrooms; , health residues of mycotoxins; diagnosis, prevention.

ملخص:

تشكيلة واسعة من المواد الخام المستخدمة في تغذية الدواجن، مما أدى إلى تنوع أكبر من الأنواع الفطرية التي قد تؤثر عليهم وتفرز السموم الفطرية كثيرة (المتغيرات في تركيبها الكيميائي، واليات تنميتها وتأثيراتها على الكائنات الحيوانية) ويمكن أن تشكل خطرا حقيقيا على صحة الإنسان. التشخيص ، ومسار العمل والوقاية من ميكوتوكسيكوس في الدواجن يتطلب استخدام عدة تقنيات والتعاون بين مختلف شركات القطاع الزراعية البيطرية.

الكلمات الرئيسية :

السموم الفطرية؛ ميكوتوكسيكوس إنتاج الدواجن العفن الفطريات، الصحة، بقايا السموم الفطرية التشخيص والوقاية.

Plans de travail :

CHAPITRE1 : Introduction à la mycotoxicose

- 1.1 Introduction.
- 1.2 Historique.
- 1.3 Définition des mycotoxicoses.
 - 1.3.1 Définition des mycotoxines.

CHAPITRE2 : Les principaux genres fongiques.

- 2.1 Le genre *Aspergillus*
 - 2.1.1 Les principales espèces.
 - 2.1.1.1 *Aspergillus flavus*
 - 2.1.1.2 *Aspergillus niger*
 - 2.1.1.3 *Aspergillus ochraceus*.
 - 2.1.2 Importance du genre *Aspergillus*
- 2.2 Le genre *Penicillium*
 - 2.2.1. Les principales espèces :
 - 2.2.1.1. *Penicillium verrucosum* Dierckx
 - 2.2.2 Importance du genre *Penicillium*

CHAPITRE3 Les principales mycotoxicoses .

- 3.1 Aflatoxicose.
 - 3.1.1 Définition.
 - 3.1.2 Etiologie.
 - 3.1.3 Agent pathogène.
 - 3.1.3.1 Sensibilité des diverses espèces.
 - 3.1.3.2 Pouvoir de la toxine.
 - 3.1.3.2.1 Pouvoir toxigène
 - 3.1.3.2.2 Pouvoir tératogène
 - 3.1.3.2.3 Pouvoir cancérigène.
 - 3.1.3.2.4 Pouvoir immunogène.

- 3.1.4 Epidémiologie.
 - 3.1.4.1 Contamination des aliments.

- 3.1.5 Pathologie.
 - 3.1.5.1 Pathogénie
 - 3.1.5.2 Symptômes et lésions.

3.2 Ochratoxicose :

3.2.1 Définition.

3.2.2 Etiologie.

3.2.3 Agent pathogène.

3.1.3.1 Sensibilité des diverses espèces.

3.1.3.2 Pouvoir toxinogène

3.1.3.2.1 Pouvoir toxinogène

3.1.3.2.2 Pouvoir tératogène

3.1.3.2.3 Pouvoir cancérigène.

3.1.3.2.4 Pouvoir immunogène.

3.1.4 Epidémiologie.

3.1.4.1 Contamination des aliments.

3.1.5 Pathologie

3.1.5.1 Pathogénie

3.1.5.2 Symptômes et lésions.

CHAPITRE4 : conduite à tenir devant une suspicion de mycotoxicose

4.1 diagnostic clinique

4.2 observation de l'aliment

4.3 diagnostic de laboratoire

4.3.1 prélèvement et expédition

4.3.2 méthodes d'analyse

4.3.3. tests biologiques

CHAPITRE5: traitement et prophylaxie des mycotoxicoses

5.1 Traitement.

5.2 Prophylaxie

CHAPITRE6 : *Risques et conséquences des mycotoxicoses aviaires*

6.1 Les risque des mycotoxicoses.

6.1.1 Les risques sanitaires

6.1.2 Les enjeux économiques

6.2 Les conséquences des mycotoxicoses.

6.2.1 Conséquence sur la production animale.

6.2.1.1 Sur l'état corporel de l'animal.

6.2.1.2 Sur la production d'œufs

6.2.2 Conséquence sur les produits d'origine animale.

6.2.2.1 Conséquences des aflatoxines

6.2.2.2 Conséquences des ochratoxines

CHAPITRE7 : *Conclusion*

Problématique :

- Qu'est-ce qu'une mycotoxicose ?
- Quelles sont les genres fongiques qui provoquent ces mycotoxicoses ?
- Quelle est la conduite à tenir devant une suspicion de mycotoxicose ?
- Quelles sont les moyens de lutte pour combattre cette maladie ?
- Quelles sont les conséquences sanitaires et économiques que peuvent engendrer ces pathologies ?

Ces interrogations sont d'actualité, par conséquent notre travail explique et détaille ces préoccupations de manière à y apporter des réponses adéquates et optimales.

Chapitre 1 :

Introduction aux

mycotoxicoses

1. INTRODUCTION AUX MYCOTOXICOSES :

1.1 Introduction

Au cours de ces dernières décennies l'aviculture a fait face à d'importantes épidémies (comme celle de l'Angleterre en 1960), ces dernières ont engendré des pertes majeures : réduction des performances des animaux, diminution de la reproduction, coût de traitement élevé (détoxification ou destruction) et même mort des animaux.

Tout cela a conduit à l'étude du milieu où vivent ces animaux et à leur alimentation. Ces études ont permis d'isoler, pour la première fois, une mycotoxine.

Aujourd'hui, les questions de sécurité alimentaire sensibilisent particulièrement le consommateur mais aussi l'ensemble de la filière agroalimentaire.

C'est dans ce contexte de précaution et de gestion des risques que les mycotoxicozes (maladie due aux mycotoxines) sont considérées comme un problème majeur de cette filière.

1.2 Historique :

Les civilisations anciennes utilisaient déjà des champignons toxiques dans un but thérapeutique ou de sorcellerie.

Cependant leurs dangers réels n'ont été identifiés qu'en 1960 lors d'une intoxication massive en Grande-Bretagne ayant conduit à la mort de plus de 100 000 dindes qui avaient consommé du tourteau d'arachide contaminé par des aflatoxines (mycotoxines).

Ces maladies n'ont donc été étudiées que récemment et les problèmes toxicologiques qu'elles soulèvent ne sont connus que depuis peu.

1.3 Définition des mycotoxicozes :

Les mycotoxicozes sont des intoxications qui touchent l'homme et l'animal. Elles sont engendrées par l'ingestion, l'inhalation ou le contact avec la peau de mycotoxines.

La classification des symptômes cliniques des mycotoxicozes dépend de facteurs comme :

- La toxine : son type, sa concentration, la durée de l'exposition ;
- L'animal : l'espèce, la race, le sexe, l'âge, l'état corporel le statut immunitaire ...
- L'environnement : gestion de l'élevage, l'hygiène...

1.3.1 Définition des mycotoxines :

Les mycotoxines sont des produits du métabolisme secondaire de diverses moisissures pouvant se développer avant, pendant et après la récolte.

Ces moisissures sont dotées de potentialités toxiques à l'égard de l'homme et des animaux. Plus de 300 métabolites secondaires ont été identifiées mais seule une trentaine possède de réelles propriétés toxiques préoccupantes.

Ces toxines se retrouvent à l'état de contaminant naturel de nombreuses denrées d'origine végétale.

Chapitre2 :

Les principaux genres

Fongiques

2. LES PRINCIPAUX GENRES FONGIQUES :

Les genres fongiques les plus importants du point de vue économique et médical sont les *Aspergillus*, les *Penicilliums* et les *Fusariums* qui représentent les contaminants les plus fréquents des aliments.

On les retrouve principalement dans les céréales, mais aussi dans de nombreux autres produits d'origine végétale et animale.

2.1 Le genre *Aspergillus* :

Appartient à la classe des *Ascomycètes*.

Ce genre comprend environ 185 espèces réparties en 18 groupes morphologiquement, génétiquement et physiologiquement proches. Une vingtaine d'espèces est impliquée dans des pathologies animales et humaines.

Les *Aspergillus* ont une large répartition géographique, mais sont plus souvent associés aux régions à climat chaud; ils se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires, les céréales.

De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont aussi connues pour leur capacité à produire des mycotoxines responsables de pathologies animales et humaines.

2.1.1. Les principales espèces :

2.1.1.1. *Aspergillus flavus* :

Le champignon se développe rapidement sur les milieux classiques (géloses au malt et Sabouraud) à 22-25°C. La température optimale de croissance est de 37°C.

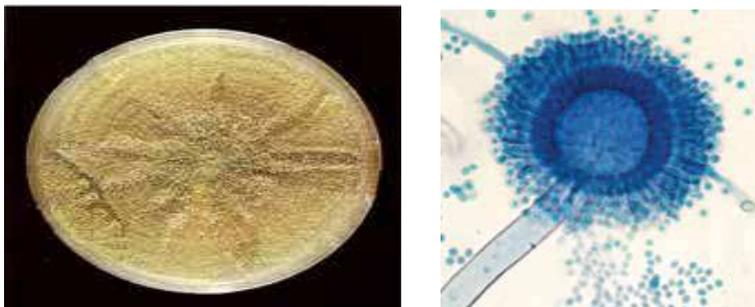


Photo : 1. *Aspergillus flavus* (Tabuc.C 2007)

(Culture de 7 jours sur gélose au malt à 25°C et aspect microscopique).

2.1.1.2. *Aspergillus niger* :

Ce champignon pousse rapidement (2-3 jours) sur les milieux de culture classiques (gélose au malt et Sabouraud).

La température optimale de croissance varie généralement entre 25 et 30°C, mais *A. Niger* peut se développer jusqu'à 42°C.



Figure 2. *Aspergillus niger*
(Culture de 7 jours sur gélose au malt à 25°C et aspect microscopique).
(Tabuc.C 2007)

2.1.1.3. *Aspergillus ochraceus*

Ce champignon pousse rapidement (2-3 jours) sur les milieux de culture classique à une température de 25 à 30°C.



Figure 3. *Aspergillus ochraceus*
(Aspect microscopique).
(Tabuc.C 2007)

2.1.2 Importance du genre *Aspergillus* :

De nombreuses espèces appartenant au genre *Aspergillus* (Tableau 1) sont connues pour leur capacité à produire certaines mycotoxines (Pitt, 2000).

Aspergillus flavus et *A. parasiticus* sont les principaux producteurs d'aflatoxines.

L'aflatoxine B1 est classée comme cancérigène chez l'homme et l'animal (IARC, 1993).

Aspergillus niger peut produire de l'acide oxalique, des malformines et, certaines souches, des aflatoxines.

Aspergillus ochraceus est le principal producteur d'ochratoxine A. Il colonise lui aussi de très nombreux substrats.

Espèces d'<i>Aspergillus</i>	Mycotoxines produites
<i>Aspergillus flavus</i>	aflatoxines B1 et B2, acide aspergillique, acide cyclopiazonique, acide kojique
<i>Aspergillus fumigatus</i>	fumigaclavine, fumagiline, fumitoxine, fumitremorgine A et C, gliotoxine
<i>Aspergillus niger</i>	malformine, naftoquinone
<i>Aspergillus ochraceus</i>	acide kojique, acide neoaspergillique, ochratoxine, acide penicillique, acide sécalonique A
<i>Aspergillus parasiticus</i>	aflatoxines B1 et B2, G1 et G2, acide aspergillique, acide kojique

Tableau 1 : Les *Aspergillus* producteurs de mycotoxines.
(Pitt, 2000)

Certaines espèces d'*Aspergillus* sont des pathogènes opportunistes ; leur développement nécessite des conditions locales favorables (cavernes tuberculeuses, cancer broncho-pulmonaire,...) ou générales (corticothérapies prolongées, chimiothérapies, SIDA...).

2.2 Le genre Pénicillium :

Ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des *Ascomycètes*.

Ce genre comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores.

Les *Penicilliums* sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement, polyphages, pouvant être responsables de nombreuses dégradations.

Ils ont pour habitat naturel le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition, le compost, les céréales.

Les espèces du genre *Penicillium* se développent normalement dans des milieux où l'activité de l'eau (*Aw*) est plus élevée que celle permettant la croissance des *Aspergillus*, à des températures plus basses. Il s'agit d'un contaminant fréquent des régions tempérées.

2.2.1. Les principales espèces :

2.2.1.1. *Penicillium verrucosum* Dierckx

C'est une moisissure très commune dans les régions tempérées du monde (spécialement au nord de l'Europe).

Les céréales (maïs, blé, orge) sont les plus fréquemment contaminées. Une corrélation positive entre la teneur protéique de l'orge et la production d'OTA a même été établie [Weidenburner, 2001].



Photo4 : *penicillium verrucosum*

2.2.2. Importance du genre *Penicillium*

La majorité des espèces du genre *Penicillium* sont capables de produire des mycotoxines :

L'acide cyclopiazonique (*Penicillium chrysogenum*), l'acide pénicillique (*Penicillium cyclopium*) ; la patuline ou la clavacine (*Penicillium expansum*, *Penicillium griseofulvum*), la citrinine (*Penicillium expansum*), l'ochratoxine A (*Penicillium verrucosum*)

Ces champignons sont des contaminants fréquemment isolés au laboratoire. Par contre les *Penicillium* sont très rarement incriminés en pathologie animale, et humaine, parce que la température de croissance de la plupart des espèces est inférieure à 30°C.

Chapitre 3

Les principales

mycotoxicoses

3. LES PRINCIPALES MYCOTOXICOSES:

3.1. Aflatoxicose :

3.1.1 Définition :

L'aflatoxicose est une intoxication par des aflatoxines (mycotoxines) ,Cela se produit généralement par la consommation d'aliments contaminés par ces mycotoxines..

L'aflatoxicose est une maladie non contagieuse. Elle est caractérisée sur les plans cliniques par des atteintes au niveau du foie plus que tout autre organe, et la suppression du système immunitaire.

Cette pathologie touche les volailles, les mammifères, les poissons et même l'homme, mais avec une exposition plus grande pour les animaux monogastriques d'élevage, porcs et volailles.

3.1.2 Etiologie :

Trois espèces d'*Aspergillus* sont connues pour leur capacité à synthétiser ces Aflatoxines :

- *A.flavus* produit principalement l'aflatoxine B1 et l'aflatoxine B2.
- *A. parasiticus* produit les 4 aflatoxines (B1 ; B2, G1, G2).
- *A.nomius* une souche rare, proche d'*A. flavus*, est capable de produire des aflatoxines (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002).

Les conditions les plus favorables à la production d'aflatoxines sont une activité en eau relativement faible (0,84 -0,86) et une température élevée, comprise entre 25 et 40 °C (Pfohl-Leszkowicz, 2001; Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002).

La famille des aflatoxines compte 13 substances.

3.1.3 Agent pathogène :

3.1.3.1. Sensibilité des diverses espèces :

De nombreuses espèces animales ont subi, accidentellement ou expérimentalement, des intoxications par des aflatoxines.

Un fait marquant est la grande variabilité de sensibilité des diverses espèces à l'intoxication aiguë ou chronique ce qui montre qu'il est difficile d'émettre des conclusions générales. Il est cependant admis que les oiseaux sont plus sensibles que les mammifères, les sujets jeunes plus sensibles que les sujets âgés.

Canard	0.4 mg/kg
Dindon	1 mg/kg
Faisan	1mg/kg
Poulet	4-7 mg/kg
Lapin	0.5-2 mg/kg
Porc	5-10 mg/kg
Bovins	Inf 10 mg/kg

Tableau 02 :DL50 d'aflatoxine pour quelques animaux

3.1.3.2. Pouvoir de la toxine :

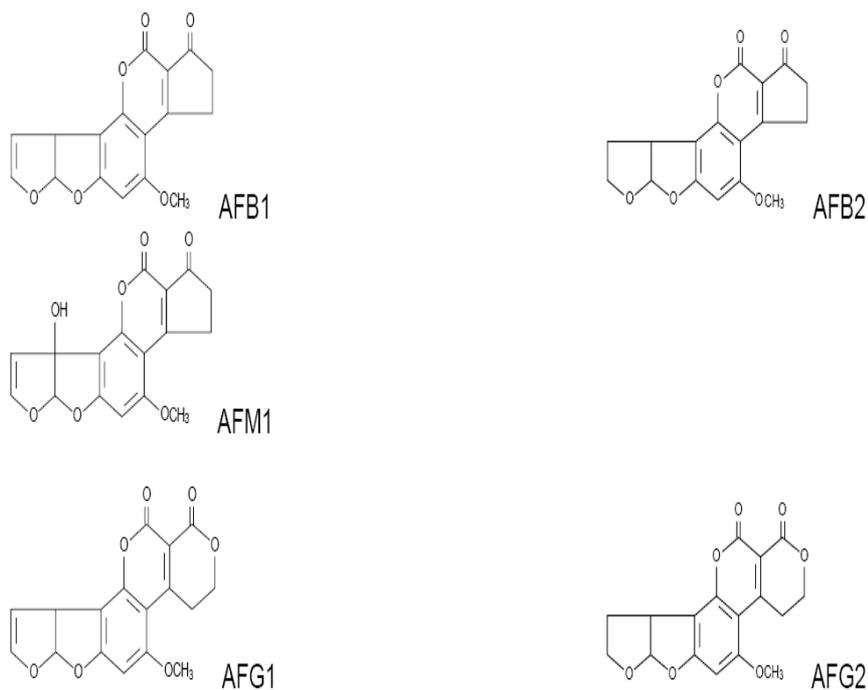
3.1.3.2.1 Pouvoir toxigène :

Les effets des aflatoxines sur la santé animale varient suivant l'espèce, l'âge, le sexe, l'état physiologique de l'animal, le mode d'administration, la composition de l'alimentation.

L'AFB1 est la plus toxique suivie, par ordre décroissant de toxicité, par l'AFM1, l'AFG1, l'AFB2 et l'AFG2.

La toxicité des aflatoxines G1, B2 et G2 est respectivement 50, 80 et 90 % moindre que celle de l'AFB1 (Cole et Cox, 1981).

Figure 1 : Structure chimiques des aflatoxines B, G et M1



AFB1 : formule brute : C₁₇H₁₂O₆

3.1.3.2.2 Pouvoir tératogène :

Les aflatoxines sont tératogènes (Arora *et al*, 1981).

L'effet tératogène est bien décrit chez les embryons de poulet pour lesquels on note un retard de développement, une microcéphalie, une anophtalmie, une fissure palatine (bec de lièvre) et une déformation des maxillaires (Vesely *et al*, 1983).

3.1.3.2.3 Pouvoir cancérogène :

Les aflatoxines sont responsables de l'apparition d'hépto-carcinomes chez les hommes et les animaux.

Pour cette raison, elle est classée dans le groupe I des molécules cancérogènes chez l'homme par l'IARC (Autrup *et al*, 1991; Vainio *et al*, 1992).

3.1.3.2.4 Pouvoir immunogène :

AFB1 exerce des propriétés immunosuppressives affectant en particulier l'immunité à médiation cellulaire par inhibition de la phagocytose, diminution de la production de radicaux oxygénés et altération de la production de cytokines.

Son effet sur l'immunité à médiation humorale s'observe pour des expositions plus élevées, variables d'une espèce animale à une autre.

Les effets immunosuppresseurs d'AFB1 semblent dus à l'altération de la synthèse d'acides nucléiques et de protéines avec diminution de la prolifération, de la maturation cellulaire et de la production des cytokines.

La réactivation d'infections parasitaires et la diminution de l'efficacité vaccinale ont été mises en évidence expérimentalement sur plusieurs modèles animaux après administration d'AFB1 (lapin, souris, porc), mais pas chez le poulet et la dinde vaccinés contre la maladie de Newcastle.

3.1.4 Epidémiologie :

La contamination des volailles se fait soit par voie digestives ou respiratoire, cependant la principale voie de contamination est l'ingestion d'aliments contaminés par les aflatoxines.

3.1.4.1. Contamination des aliments :

Compte tenu des conditions de synthèse, les aflatoxines sont généralement trouvées dans les aliments en provenance de régions chaudes et humides (Amérique de Sud, Afrique, Asie).

Elles ont été détectées dans les céréales (maïs, blé, orge, avoine, seigle, riz) et les produits à base de céréales, des oléagineux (soja), des arachides, des pistaches, et leur dérivés, des légumes (pommes de terre, lentilles, piments) et fruits secs (figues) et bière. Les proliférations fongiques et les productions d'aflatoxine ont lieu au champ et au cours du stockage.

3.1.5 Pathologie :

3.1.5.1 Pathogénie :

Les aflatoxines sont absorbées au niveau du duodénum (Kumagai, 1989), cette absorption pourrait représenter près de 90% de la dose administrée (Gregory *et al.* 1983).

Après absorption, les aflatoxines sont véhiculées dans l'organisme puis se fixent sur les protéines plasmatiques. C'est le cas de l'AFB1 liée à l'albumine. Leur présence dans le sérum peut servir de bio-indicateur d'exposition (Chapot et Wild, 1991).

Les aflatoxines, en particulier l'AFB1 qui a été la plus étudiée, subissent un métabolisme hépatique rapide se déroulant en deux phases (Eaton et Gallagher, 1994)

Une phase I de biotransformation qui met en jeu les enzymes mono-oxygénases à cytochromes P450 (CYP).

La voie dominante de l'activation *in vivo* de l'AFB1 dans le foie permet la transformation par époxydation de l'AFB1 en l'AFB1 8,9-époxyde, aussi on aura une réduction de la fonction cétone en C1 (via une NADPH réductase) pour former l'aflatoxicole.

Cette bioactivation jouerait un rôle déterminant dans l'apparition ultérieure de lésions hépatiques.

Une forte bioactivation pourrait expliquer la plus grande sensibilité des canards aux aflatoxines alors que les cailles seraient plus résistantes en raison de faibles capacités métaboliques

Une phase II du métabolisme concerne le devenir de l'AFB1 8,9-époxyde.

Elle comprend la conjugaison de l'AFB1 8,9-époxyde au glutathion par des glutathion S-transférases (GST). Une conjugaison à l'acide glucuronique des métabolites hydroxylés aboutit à la formation de glucurono-conjugés.

Si la répartition entre espèces aviaires des enzymes de phase II est moins étudiée que celle de phase I, il semble que le niveau d'expression des GST soit déterminant pour expliquer les différences de sensibilités à l'AFB1 entre les espèces d'oiseaux (Klein *et al.*, 2002).

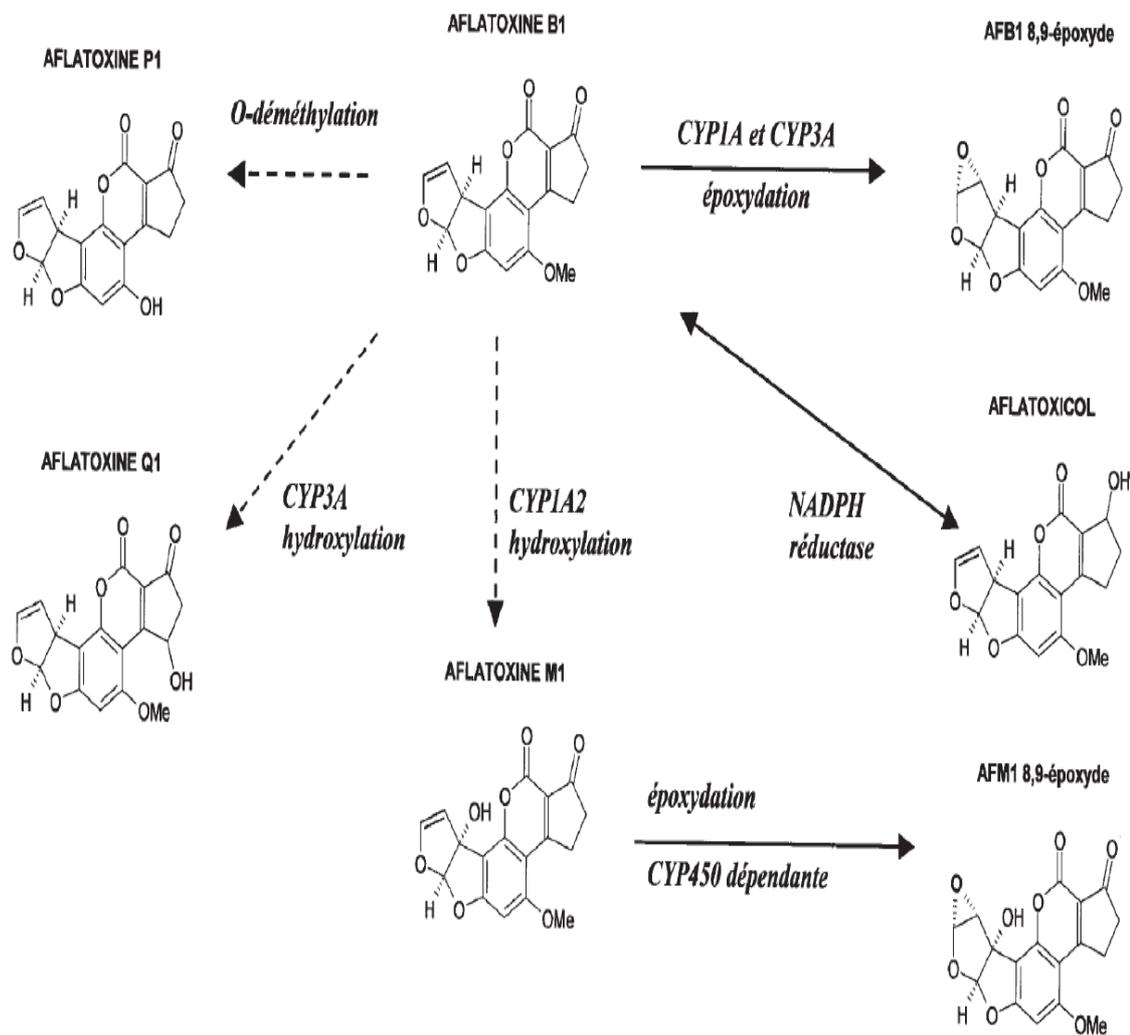


Figure 2 : (Biotransformations de phase I

entraînant une réduction flèches en pointillés) ou une augmentation (flèches pleines) de la toxicité de l'aflatoxine B1. (Eaton Et Gallagher, 1994)

3.1.5.2. Symptômes et lésions :

Comme dans la plupart des espèces animales, la cible principale des aflatoxines est le foie et les manifestations de l'intoxication sont variables selon la durée d'exposition et la dose, une forme aiguë et une forme chronique pouvant être observées.

Intoxication aiguë :

En général les formes aiguës d'intoxication ne sont pas observées dans les conditions d'élevage. Cependant l'ingestion d'une grande quantité d'aflatoxine, peut être responsable de l'apparition de cette forme.

Elle se caractérise généralement par la mort rapide des animaux, Ils présentent alors un foie décoloré et augmenté de volume (hépatotoxicité) ; les reins présentent des signes de glomérulonéphrite et les poumons sont congestionnés.

Intoxication chronique :

La forme chronique de l'intoxication est la plus fréquente. Elle fait suite à l'ingestion d'aliments contaminés pendant plusieurs semaines (minimum 1 semaine).

Les manifestations cliniques observées sont dominées par une diminution des performances (diminution du GMQ, chute de ponte) associée à des hémorragies et des défauts de pigmentation des carcasses.

Les lésions hépatiques sont les plus caractéristiques. Une hyperplasie nodulaire avec fibrose et prolifération des canalicules biliaires est observée chez le canard (0.1 mg/kg), la dinde (0.3 à 0.5 mg/kg), le poulet (0.5 à 2 mg/kg).

Lors d'exposition prolongée pendant plusieurs semaines (souvent plus de 10), la fibrose hépatique s'accompagne de tumeurs et une toxicité embryonnaire peut apparaître.

Ces troubles sont accompagnés de différentes altérations biochimiques et hématologiques. On note :

- diminution des concentrations sériques en protéines, cholestérol, triglycérides
- augmentation des concentrations en gammaglutamyl transférase, phosphatases alcalines, sorbitol déshydrogénases et transaminases.
- une altération des défenses immunitaires (varie avec la dose d'exposition aux aflatoxines et le moment d'exposition à l'agent infectieux).



Photo 05: Foie pâle, atrophié avec des foyers hémorragiques
(Source : FRIEND *M* et FRANSON *J. C*, 1999)

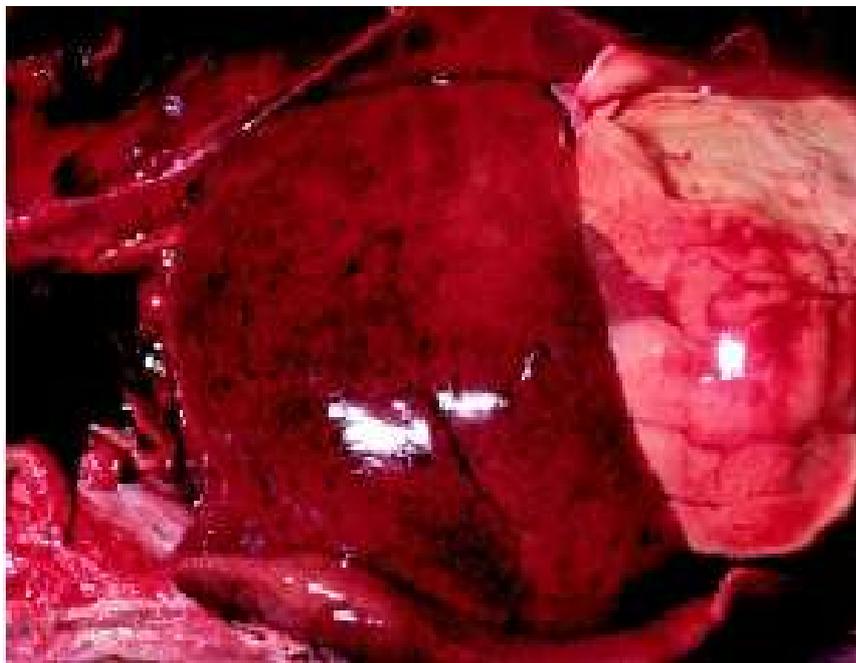


Photo 06: hémorragie hépatique
(Source : FRIEND *M* et FRANSON *J. C*, 1999)

3.2.Ochratoxicoses :

3.2.1 Définition :

L'ochratoxicose est une intoxication due à l'ingestion d'aliments contaminés par l'ochratoxine (mycotoxine).

L'ochratoxicose entraîne des affections variées dominées par un syndrome de néphropathie aiguë ou chronique chez les animaux.

Les espèces animales les plus sensibles à l'OTA semblent être le porc et la volaille mais la mycotoxine est dangereuse pour de nombreuses d'autres espèces, y compris l'homme.

3.2.2 Etiologie :

L'ochratoxicose résulte de l'ingestion de mycotoxine spécifique : «l'ochratoxine ».

Les ochratoxines sont des composés hétérocycliques dont l'importance résulte, entre autre, de l'ubiquité des organismes les produisant.

La famille des ochratoxines comprend une dizaine de molécules connues, mais l'ochratoxine A est le représentant le plus important.

L'ochratoxine A ou OTA est produite par des espèces d'*Aspergillus* (*A.ochraceus*) et de *Penicillium* (*P. verrucosum*, *P. viridicatum*) ce qui en fait un contaminant pouvant être produit dans des conditions assez variables. En effet, la température optimale de production de l'OTA par l'*Aspergillus ochraceus* est de 28 °C, cette production étant fortement réduite à 15 °C ou 37 °C. Au contraire, *Penicillium viridicatum* se développe et peut produire de l'OTA dans une gamme de températures qui varie de 4 à 30 °C.

Dans les régions froides, l'OTA est donc plutôt produite par des *Penicillium*, alors que dans les régions chaudes, ce sont plutôt les *Aspergillus* qui la synthétisent (Pohland *et al.*, 1992 ; Varga *et al.*, 1996).

<i>Aspergillus</i>	<i>Pénicillium</i>
<i>A.ochraceus</i>	<i>P.verrucosum</i>
<i>A.alliaceus</i>	<i>P.chrysogenum</i>
<i>A.elegans</i>	<i>P.commune</i>
<i>A.fresenii</i>	<i>P.cyclopium</i>
<i>A.melleus</i>	<i>P.escpansum</i>
<i>A.ostanus</i>	<i>P.palpitanis</i>
<i>A.petrakii</i>	<i>P.purpurescens</i>
<i>A.sclerotiorum</i>	<i>P.nordicum</i>
<i>A.sulphureus</i>	<i>P.variabile</i>
<i>A.glancus (eurotium herbariorum)</i>	<i>P.verruculosum</i>

Tableau 3 : les différentes espèces d'*Aspergillus* et *Penicillium* productrices d'ochratoxine A (Holmberg et al., 1991)

3.2.3 Agent pathogène :

3.2.3.1 Sensibilité des diverses espèces :

Caneton d'1 jour	25 µg/ caneton (VAN DER MERWE et COLL 1965) 150 µg/ caneton (PURCHASE et NEL ,1976)
Poussin d'1 jour	3.3-3.9 mg/kg (PECKHAM et COLL ,1971) 166 µg/ poussin (CHU et CHANG ,1971)
Dindon d'1 jour	5.9 ng/kg (PRIOD et COLL, 1976)
Caille 3 jours	16.5 mg/kg (PRIOD et COLL, 1976)
Rat femelle	20mg/kg (PURCHASE et THERON1968)
Male	22mg/kg (PURCHASE et THERON 1968)
Néo-natal	3.9mg/kg (HAYES et COLL ,1977)
Truite arc-en-ciel	4.67mg/kg (DOSTER et COLL, 1972)

Tableau4 : DL50 d'ochratoxine pour quelques animaux.

3.2.3.2. Pouvoir de la toxine :

3.2.3.2.1 Pouvoir toxinogène :

L'organe cible pour l'OTA est le rein. (Pohland *et al.*, 1992 ; Marquardt et Fröhlich, 1992).

Toutefois, la toxicité de cette mycotoxine peut varier en fonction de l'espèce, du sexe, de la voie d'administration

L'OTA est aussi très facilement et rapidement absorbée par le tractus respiratoire (Breitholz-Emanuelsson *et al.*, 1995).

L'OTA est potentiellement néphrotoxique chez toutes les espèces testées, à l'exception des ruminants adultes (Ribelin *et al.*, 1978). Des études effectuées au Danemark, en Hongrie, en Scandinavie et en Pologne, ont montré que l'OTA peut jouer un rôle majeur dans l'étiologie de la néphropathie porcine. Des lésions rénales chez le poulet ont aussi été associées à l'ingestion de cette mycotoxine (Hamilton *et al.*, 1982)

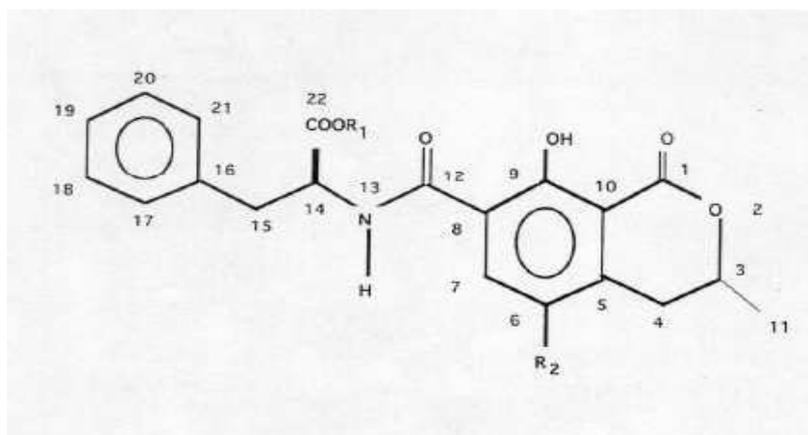


Figure3 structure chimique d'ochratoxine A
(hohler, 1998)

3.2.3.2.2 Pouvoir tératogène

L'OTA est tératogène chez l'animal.

Elle provoque des anomalies morphologiques diverses chez le rat, la souris, le hamster, le porc et les embryons de poulet. Celles ci incluent :

Une mortalité fœtale augmentée, des malformations fœtales, une perte de poids des fœtus, une proportion anormale de fœtus présentant des hémorragies, une réduction de la taille des

portées et des retards de croissance, anomalies des viscères et du squelette (Pfohl-Leszkowicz,)

3.2.3.2.3 Pouvoir immunogène :

L'OTA administrée à divers animaux provoque des effets variables au niveau de la moelle osseuse et de la réponse immunitaire.

Elle peut être à l'origine de lymphopénie, de régression du thymus et de suppression de la réponse immunitaire (Singh *et al.*, 1990, Lea *et al.*, 1989, Luster *et al.*, 1987).

3.2.4 Epidémiologie :

L'OTA peut avoir une forte toxicité chez la volaille, la mortalité pouvant atteindre 55%.

Les atteintes majeures sont rénales, mais l'état général des volailles est aussi largement affecté [Hamilton *et al.*, 1982].

Les niveaux toxiques minimum pour les volailles sont voisins de 0,5 mg/kg d'aliment chez les poules pondeuses et les poulets de chair [Huff *et al.*, 1978].

Neuf épisodes d'ochratoxicose ont été recensés en 1982, aux USA, par Hamilton [Hamilton *et al.* 1982]: les lots de dindes, poules pondeuses et poulets de chair affectés, comptant entre 20000 et 1 200 000 animaux étaient contaminés par des niveaux d'OTA dans l'alimentation allant de 0,3 à 16 ppm.

3.2.4.1 Contamination des aliments

Bien que les infections fongiques puissent avoir lieu avant et après récolte, la synthèse de l'ochratoxine A se fait surtout lors du stockage.

L'ochratoxine A est retrouvée essentiellement dans les céréales (blé, maïs, seigle, orge, avoine...), mais aussi dans le riz, le soja, le café, le cacao, les haricots, les pois, les cacahuètes et les fruits secs (figues, raisins).

Elle est présente aussi dans les produits dérivés des céréales comme la farine, le pain, les pâtes (Majerus *et al.*, 1993), dans la bière (El-Dessouki, 1992) et même dans le vin et les jus de raisin (Zimerli et Dick, 1996).

Contrairement aux aflatoxines, retrouvées le plus souvent dans des céréales issues des régions chaudes, l'ochratoxine A est retrouvée dans les céréales de toutes les régions.

3.2.5 Pathologie :

3.2.5.1 Pathogénie

L'OTA est d'abord absorbée dans l'estomac en raison de ses propriétés acides ($pK_a = 7,1$) mais l'absorption est aussi possible au niveau de l'œsophage.

Le groupement hydroxyle joue un rôle important dans la mesure où pour un faible pH, la forme non ionisée favorise l'absorption de l'OTA (Marquardt et Frohlich, 1992). Néanmoins, le site majeur d'absorption de l'OTA est l'intestin grêle avec une absorption maximale au niveau du jéjunum proximal (Kuiper-Goodman et Scott, 1989 ; Marquardt et Frohlich, 1992).

Elle est hydrolysée en OT α non toxique par la carboxypeptidase A et la chymotrypsine ainsi que par les flores microbiennes (gros intestin).

Au niveau hépatique, l'OTA est transformée en métabolites mineurs comme les 4R- et 4S hydroxy- ochratoxine A (4-OH-OTA) et la 10-hydroxy ochratoxine A. Les formes isomères de 4-OHOTA sont considérées comme des métabolites de détoxification partielle.

La liaison de forte affinité de l'OTA aux protéines plasmatiques contribue au prolongement de son temps de demi-vie plasmatique (6.7 h chez la vache, 4.1 h chez les poulets, et 35.5 jours chez l'homme (par voie orale) (Hagelberg *et al.*, 1989).

Il a été montré que des protéines de faible poids moléculaire (20 KDa) se lient plus spécifiquement à l'OTA que l'albumine, et qu'elles peuvent facilement traverser le glomérule permettant l'accumulation de l'OTA dans le rein (Stojkovic *et al.*, 1984) .

L'excrétion biliaire et la filtration glomérulaire jouent un rôle très important dans la clairance plasmatique (Hagelberg *et al.*, 1989) et dans le métabolisme de l'OTA (Li *et al.*, 1997, 2000).

Cette toxine est éliminée très lentement de l'organisme, alors que ses métabolites sont éliminés beaucoup plus rapidement (Li *et al.*, 2000).

La réabsorption de l'OTA au niveau des tubules rénaux via des transporteurs anioniques favorise son retour dans le plasma et son accumulation rénale (Dahlmann *et al.*, 1998)

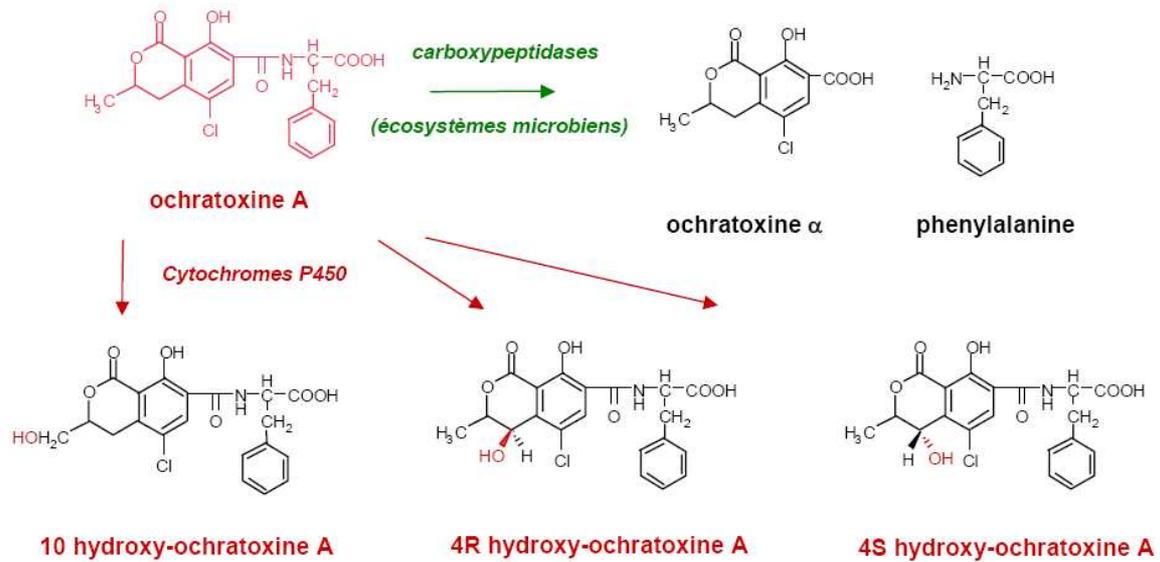


Figure 04 : voie métabolique de l'OTA (Stormer et al., 1981)

3.2.5.2. Symptômes et lésions:

Comme chez la plupart des espèces d'élevage, l'intoxication par l'OTA peut se manifester chez les volailles par une forme aiguë ou une forme chronique. Ces deux formes sont observées après ingestion de doses relativement élevées d'OTA

Intoxication aiguë :

Les DL50 établies pour l'OTA chez les volailles varient de 3,4 mg/kg p.v. chez les poulets à 16,5 mg/kg p.v. chez les cailles (Prior *et al.*, 1976). Chez les dindes, la DL50 orale est de 5,9 mg/kg p.v.

L'OTB et l'OTC seraient moins toxiques que l'OTA (Peckham, 1978).

Le poussin de 1 jour serait environ 2 fois plus sensible que le jeune de 3 semaines, aussi bien chez les poulets que les dindes (Peckham, 1978 ; Chang *et al.*, 1981).

Les DL 50 seraient environ 20 fois plus basses lors d'administration intra péritonéale (Chang *et al.*, 1981).

Les formes aiguës de l'intoxication sont rapportées lors d'exposition à des concentrations en OTA variant de 2 à plusieurs dizaines de mg/kg d'aliment.

Une diminution de la consommation alimentaire a été constatée chez la dinde mais pas chez le poulet (Hamilton *et al.*, 1982 ; Burditt *et al.*, 1984). Les animaux sont prostrés, ataxiques avec des tremblements et une diminution des réflexes.

La mortalité peut atteindre 55%.

A l'autopsie :

- les reins sont pâles, gonflés et hémorragiques (Hamilton *et al.*, 1982).
- Le foie est pâle,
- hypertrophie des nœuds lymphatiques
- une congestion intestinale.
- Des hémorragies dans différents tissus,
- La bile est plus claire et moins visqueuse.
- une gastrite et une entérite catarrhales (poulet et canard) (Hamilton *et al.*, 1982 ; Bryden, 1998).

A ces doses, l'OTA ne semble pas modifier la spermatogenèse mais augmenterait la mortalité embryonnaire précoce (Prior *et al.*, 1979).

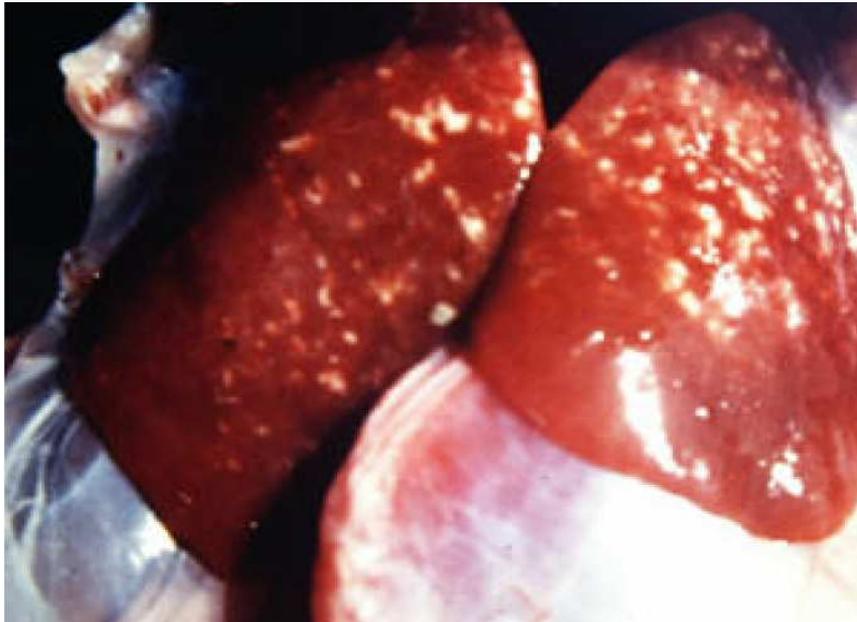


Photo7 : Foie de poulet fibrosé avec des foyers de nécrose
(Maxwell & Burns, 1987 afssa).

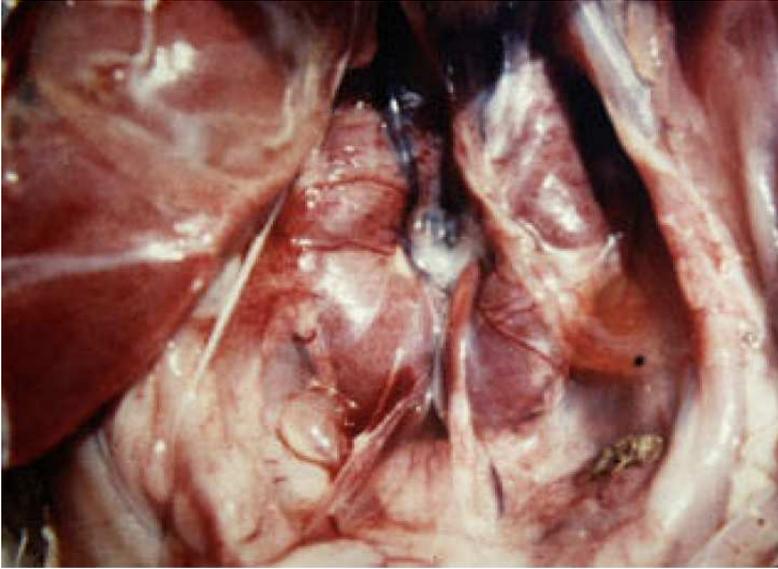


Photo8 :rein de poulet hypertrophiée.
(Burns & Maxwell,1987 .affsa)

Intoxication chronique :

Les formes chroniques de l'intoxication sont observées lors d'exposition pendant plusieurs semaines à des concentrations en OTA dans l'aliment de 0,3 à 4 mg/kg.

Ces concentrations sont relativement élevées, les niveaux toxiques minimum pour les volailles sont voisins de 0,5 mg/kg d'aliment chez les poules pondeuses et les poulets de chair (Huff *et al*, 1978).

Les principaux symptômes observés sont un retard de croissance et un mauvais indice de conversion alimentaire.

Une néphropathie est rapportée dans toutes les espèces exposées à des concentrations supérieures ou égales à 2 mg d'OTA/kg d'aliment (Chang *et al.*, 1981 ; Dwidedi *et al.*, 1984a et c, Kubena *et al.*, 1985, Hamilton *et al.*,1982). Elle s'accompagne d'une polyurie polydipsie cliniquement révélée par un large volume de fèces humides (Elling *et al*, 1975).

Des signes digestifs tels que l'augmentation du poids du gésier et des problèmes de conformation avec retards de maturité sexuelle sont parfois rapportés (Huff *et al*, 1988).

Chez le poulet, une dépigmentation, peut-être liée à une diminution des teneurs plasmatiques en caroténoïdes et une diminution de la solidité des os ont été observées, de même qu'une ostéoporose (Hamilton *et al*, 1982, Dwidedi *et al*, 1984a ; Duff *et al*, 1987).

Chez les poules pondeuses, on note une diminution de la production d'œufs avec un nombre excessif de taches sur les coquilles d'œufs produits et une diminution de la gravité spécifique des œufs : les coquilles sont minces et molles et les bris de coquilles plus élevés (Page *et al.*, 1980 ; Hollinger et Ekperigin, 1999).

Un refus alimentaire ne semble pas être la cause de la chute de ponte (Prior et Sisodia, 1978 ; Bryden, 1998). Un apport supérieur en protéines ou une supplémentation de la ration en phénylalanine diminuent les signes cliniques (Gibson *et al.*, 1989 et 1990).

Ces troubles sont accompagnés de différentes altérations biochimiques et hématologiques. On note :

- Une diminution des concentrations sériques en protéines, cholestérol, triglycérides, ammoniacque, calcium, phosphates inorganiques, potassium et caroténoïdes.
- Une augmentation des concentrations en acide urique et en créatinine.
- Une augmentation de la filtration glomérulaire
- Une augmentation de la diurèse
- Une diminution de l'osmolarité des urines

(Huff et Hamilton, 1975 ; Huff *et al.*, 1975 ; Page *et al.*, 1980 ; Schaeffer *et al.*, 1987 ; Huff *et al.*, 1988 ; Glahn *et al.*, 1988 et 1989 ; Ayed *et al.*, 1991 ; Elissalde *et al.*, 1994 ; Hollinger et Ekperigin, 1999).

- Une anémie microcytaire et hypochrome est parfois rapportée (Huff *et al.*, 1979a et 1988).
- Une altération de la coagulation sanguine (Doerr *et al.*, 1981).

Un apport supérieur en protéines ou une supplémentation de la ration en phénylalanine diminuent les signes biochimiques et hématologiques (Bailey *et al.*, 1989 et 1990).

Enfin, une altération des défenses immunitaires est observée. Elle s'accompagne :

- d'une lymphopénie variable,
- d'une hypoplasie médullaire,
- d'une lymphopénie sanguine et tissulaire (bourse de Fabricius, thymus, rate, plaques de Peyer),
- d'une diminution des teneurs en immunoglobulines
- une diminution des capacités phagocytaires des monocytes et des polynucléaires neutrophiles avec,
- dans certains cas, une augmentation de la sensibilité aux infections et infestations

(Chang *et al.*, 1979 ; Huff et Russ, 1982 ; Hamilton *et al.*, 1982 ; Singh *et al.*, 1990 ; Elissalde *et al.*, 1994 ; Fukata *et al.*, 1996 ; Hollinger et Ekperigin, 1999 ; Stoev *et al.*, 2000 et 2002 ; Kumar *et al.*, 2003 et 2004).

A l'autopsie, dans les cas les plus sévères, on constate :

- une néphrose sévère, avec accumulation d'urates dans les tubules, les uretères et sur le mésentère.
- Une atrophie des reins uni ou bilatérale est constatée chez certaines espèces alors qu'une hypertrophie avec œdème ou une absence d'effet est constatée dans d'autres ?

(Huff *et al.*, 1975 ; Page *et al.*, 1980 ; Change *et al.*, 1981 ; Dwidedi *et al.*, 1984c, Ruff *et al.*, 1990 et 1992 ; Huff *et al.*, 1990 et 1992b ; Hollinger et Ekperigin, 1999 ; Kumar *et al.*, 2003 et 2004)

- .Chez certains oiseaux, une légère entérite catarrhale peut être mise en évidence.

L'examen microscopique des reins révèle :

Une atrophie et une dégénérescence des tubules proximaux et distaux (Huff *et al.*, 1975 ; Hollinger et Ekperigin, 1999).

Le tube contourné proximal est le plus atteint, il présente une distension sévère, un élargissement et une hypertrophie, un épaississement des membranes basales des glomérules avec, dans certains cas, de faibles accumulations de glycogène dans le cytoplasme (Burns et Maxwell, 1987).

Le cytoplasme de l'épithélium tubulaire est granuleux avec hyperplasie cellulaires.

Au niveau hépatique, on constate une vacuolisation périlobulaire avec une possibilité de dégénérescence et de nécrose focale (Burns et Maxwell, 1987).

Le contenu hépatique en glycogène est augmenté, l'OTA inhibant la mobilisation du glucose à partir du glycogène ; en revanche le contenu lipidique demeure inaltéré (Huff *et al.*, 1979b ; Bryden, 1998).

L'hépatotoxicité de l'OTA serait plus importante chez la caille que chez les autres espèces (Maxell *et al.*, 1987).

Enfin, un élargissement du volume intestinal accompagné d'une plus grande fragilité de la paroi a été décrit (Warren et Hamilton, 1980).

Chapitre 4

Conduite à tenir devant une suspicion de mycotoxicose

4. DIAGNOSTIC

Le diagnostic clinique ne mène qu'à une suspicion. Pour confirmer une mycotoxine dans un processus pathologique ou une altération de paramètres zootechniques, un dosage de laboratoire doit venir confirmer la suspicion clinique. (BOUHOUCHE.M et MERZOUG.N .2007)

4.1 Diagnostic Clinique

Le diagnostic de mycotoxicose est basé sur trois caractéristiques particulières permettant de différencier ces intoxications des autres types d'affections des oiseaux (infections virales, parasitaires, bactériennes, métaboliques ...) :

- Des troubles similaires apparaissent de façon soudaine sur un grand nombre d'animaux de l'élevage et ne répondent pas aux traitements.
- Les commémoratifs révèlent un lien entre la distribution d'un aliment et des conditions climatiques particulières.
- L'apparition des troubles est corrélée à certaines circonstances dans la conduite de l'élevage : ouverture d'un silo, distribution d'un aliment visiblement moisi.

Le vétérinaire praticien doit s'appuyer sur plusieurs éléments pour réaliser un diagnostic clinique.

Le recueil de commémoratifs constitue un passage obligatoire. Les informations portent :

1. Sur l'aliment :

- * Nature de la denrée ;
- * Conditions de conservation ;
- * Conditions climatiques ;
- * Origine ;
- * Durée de stockage. ;

2. Sur les animaux :

- * Espèce ;
- * Age ;
- * Sexe ;
- * Etat physiologique.

3. Sur d'autres éléments extrinsèques :

- * Zone géographique ;
- * Conditions climatiques pendant la culture et la récolte.

La plupart du temps, la simple observation d'un tableau clinique ne permet pas d'aboutir à un diagnostic d'une mycotoxicose particulière. En effet, les signes cliniques observés sont souvent très peu spécifiques. Cependant, quelques intoxications sont assez caractéristiques.

Le clinicien doit donc veiller à définir l'organe atteint : s'agit-il du tube digestif ? De manifestations nerveuses ? De troubles rénaux, respiratoires ?

Ensuite, il procède à l'établissement d'une liste des mycotoxines suspectées dans l'ordre décroissant de probabilité. (Bouhouche.M et Merzoug.N .2007)

Il est de règle de faire confirmer un diagnostic clinique par des examens de laboratoire. Les observations du praticien serviront à orienter les recherches vers quelques mycotoxines.

4.2 Observation de l'aliment

Les moisissures, quand elles sont visibles, peuvent être caractéristiques. Cependant, cette simple observation est une technique très peu sensible pour dépister ce parasitisme. De plus, au laboratoire, certaines souches montrent un changement de caractères. La méthode consistant à compter la proportion de grains parasités dans un échantillon de grains prélevés de façon aléatoire pour évaluer l'intensité de la contamination. (bouhouche.m et merzoug.n .2007)

4.3 Diagnostics de laboratoire

3.1 Prélèvement et expédition :

La croissance fongique se réalise de façon hétérogène dans la denrée stockée. De ce fait, les moisissures sont retrouvées principalement dans les zones humides, le long des parois du silo où se forme de la condensation et/ou dans les zones aérobies. De point de vue qualitatif, la mycoflore varie également selon le lieu de prélèvement.

Avant tout, il est nécessaire de rappeler qu'il est indispensable de faire parvenir au laboratoire un échantillon d'aliment du lot ou du silo suspecté ! En effet, les laboratoires reçoivent fréquemment des prélèvements d'aliments non contemporains de l'intoxication.

Deux types de prélèvements peuvent être réalisés selon l'objectif recherché :

- Le prélèvement représentatif consiste à rassembler différents échantillons de l'aliment dont la somme est représentative du lot. Il sera mis en œuvre lorsqu'on cherchera à attribuer des symptômes à une teneur excessive de l'aliment en mycotoxines.

- Le prélèvement à "orientation toxicologique" permet d'augmenter les chances de dépistage de la mycotoxine en prélevant des échantillons à risque. Cette technique améliore la sensibilité du diagnostic. Ce type d'échantillonnage est préféré lorsque l'objectif est de mettre en évidence une mycotoxine. Cependant, les données chiffrées obtenues suite à l'analyse ne sont pas extrapolables aux quantités ingérées. Aussi, ce type de prélèvement ne peut servir pour une expertise puisqu'il n'est pas représentatif de la denrée.

Plusieurs exemples de lieu sont donnés. Un échantillon de 500 g minimum est indispensable. Mais il est préférable d'envoyer 1 à 5 kg. Il convient pour cela de prélever dans différents endroits (30 ou 40 points différents) en préférant les zones colorées ou altérées.

Une fois le prélèvement réalisé, il convient de l'expédier au laboratoire dans de bonnes conditions, accompagné de commémoratifs précis. Le conditionnement est variable selon le type de denrée à analyser.

Les denrées peu hydratées doivent être envoyées dans un emballage papier (grande enveloppe neuve) après une période de séchage éventuel si la teneur en eau dépasse 13 % pour les céréales, foin et pailles et 8 % pour les oléagineux (à une température inférieure à 45° C). Les emballages imperméables tels que gants pour examen transrectal sont à proscrire (risque de développement d'autres espèces fongiques). (Bouhouche.M et Merzoug.N .2007)

Les aliments fortement hydratés doivent être placés dans un sac plastique hermétique duquel on a chassé l'air. La conservation éventuelle se fait à 4°C. Le délai pour l'obtention des résultats varie entre 1 et 4 semaines selon la technique employée.

3.2 Méthodes d'analyse :

Recherche d'un marqueur de la présence d'une contamination par des moisissures. L'ergostérol, composé majoritaire de la membrane cytoplasmique des champignons est un stérol absent des plantes et des animaux. Il constitue donc un marqueur de la présence d'une contamination fongique dans un aliment. Le dosage de ce constituant détecte même une contamination fongique passée (moisissures mortes). Cependant, l'ergostérol n'est pas spécifique aux champignons toxigènes et l'analyse d'aliments contaminés par des moisissures inoffensives se révèle positive. Le dosage de ce composé n'est donc pas d'une grande fidélité dans la mise en évidence de mycotoxines.

3.2.1- Etude mycologique

L'identification des moisissures présentes dans l'aliment renseigne sur la qualité de conservation de cet aliment. Les techniques disponibles font intervenir la culture mycologique (technique longue) ou parfois le comptage de spores. Mais cet examen mycologique n'a pas de signification toxicologique puisque la mise en évidence de moisissures potentiellement toxigènes n'implique pas obligatoirement la présence de mycotoxines. L'inverse est également vrai : très souvent, le champignon est détruit par la chaleur et non pas la mycotoxine. (Bouhouche.M et Merzoug.N .2007)

• Concernant la culture de moisissures, deux techniques sont utilisées pour les grains :

* Méthode GEVES

Une dizaine de grains désinfectés en surface (afin de ne mettre en évidence que la mycoflore interne) sont déposés sur un milieu gélosé. La lecture est réalisée à l'issue de l'incubation de la boîte de pétri pendant 6 à 10 jours après. La distinction des espèces contaminées peut être difficile.

* Norme AFNOR n°V-18-301

Un broyage des grains est réalisé. Différentes dilutions sont ensuite effectuées puis étalées sur des géloses. Après 15 jours d'incubation, les UFC (Unités Formant Colonie) sont dénombrées et identifiées. Cette technique permet un bon échantillonnage mais favorise les espèces fongiques très sporulantes (une spore donne une colonie).

Aucune de ces méthodes ne permet de prouver avec certitude la responsabilité d'une mycotoxine dans la symptomatologie enregistrée. Seul le dosage individuel des molécules suspectées constitue une certitude sur la contamination de la denrée.

* Identification des champignons toxigènes par PCR (polymérase Chain réaction)

Est la seule technique permettant une identification certaine des souches toxigènes en se basant sur l'étude de leur ADN (puisque la séquence génomique cible est un ou des gènes responsables de la biosynthèse de la mycotoxine). (RUSSELL. R et PATERSON. M, 2006)

• Identification et dosage des mycotoxines

Différentes techniques sont disponibles. Le dosage fait appel à deux grands types de techniques :

* Technique colorimétrique : la toxine est couplée à une substance qui lui donne une capacité fluorescente. Ainsi la quantité de toxine est dosée par mesure de la fluorescence par un fluoromètre.

* La chromatographie couplée à un spectromètre de masse (HPLC-UV, HPLC-fluorescence technique) : chromatographie sur couche mince (CCM), chromatographie en phase liquide de haute performance (CLHP), en phase gazeuse (CPG). (ZOLLNER. P et MAYER-HELM. B, 2006 ; BAO-JUN XU et col, 2006)

Elles comportent schématiquement les quatre phases suivantes :

- a. La récolte de l'échantillon et sa préparation.
- b. L'extraction des toxines avec élimination du maximum d'impuretés.
- c. La séparation de la (ou des) toxine(s).
- d. L'identification et éventuellement le dosage.

* Les techniques immunologiques et notamment immuno-enzymatiques (ELISA) (SAPSFORD. K. E et col, 2006 ; BAO-JUN XU et col, 2006)

Les techniques chromatographiques sont la référence pour le dosage des mycotoxines. Leur sensibilité intrinsèque (seuil de détection) atteint le ppb (partie par billion) voire moins. Cependant, les mycotoxines étant présentes dans les aliments à l'état de traces, des étapes préalables, complexes, d'extraction et de purification sont nécessaires pour "concentrer" ces contaminants. Le principal inconvénient à ce type de méthodes est donc le coût élevé (résultant des différentes phases de préparation avant dosage). (Bouhouche.M et Merzoug.N .2007)

Depuis une vingtaine d'années, des techniques immunologiques de dosage des mycotoxines ont été mises au point. Elles offrent simplicité des manipulations et rapidité. Par contre, elles révèlent parfois des faux négatifs et faux positifs. Ces techniques sont basées sur la réaction antigène anticorps. Les techniques immunologiques actuelles passent par la réalisation de quatre phases :

* Préparation de l'immunogène: on couple la mycotoxine à doser à une protéine porteuse;

* Production d'anticorps chez l'animal: immunisation, collecte des sérum et purification des immunoglobulines spécifiques;

* Caractérisation des anticorps (titre et spécificité désirée);

* Application de la technique elle-même: Radio-immuno-assay (RIA), Enzyme-immuno-assay (EIA), Immuno-affinity-chromatography (IAC).

L'interprétation des données quantitatives issues du dosage est primordiale. C'est à l'issue de cette étape qu'aboutit le diagnostic de certitude. Mais, les résultats donnés par différents laboratoires pour un même échantillon peuvent fluctuer sensiblement (jusqu'à un facteur multiplicatif de 10). De plus l'aliment est rarement mono contaminé et de nombreuses interactions peuvent avoir lieu entre les toxines. La molécule dosée est souvent accompagnée d'autres composés voisins (métabolites) non dosés dont la toxicité est méconnue.

3.3. Tests biologiques

Ce procédé a l'avantage de détecter pratiquement toutes les mycotoxines et déceler éventuellement une synergie si plusieurs sont présentes en même temps. Il n'existe, par contre, aucun critère suffisamment pathognomonique pour identifier la toxine en cause. De plus aucun dosage n'est possible par ces méthodes. Elles consistent :

- En une administration orale (sonde gastrique) de l'extrait d'aliment toxique, sur des souris, rats, canetons d'un jour, cailles et contrôles des effets produits.
- En une inoculation sur cultures cellulaires ou embryon de poulet suivie d'une mesure des effets biologiques (formule sanguine; courbe de poids, autopsie, histologie, effet cytopathogène).
- En essais d'inhibition de croissance de certains microorganismes (amibes, B.megaterium) .

En général, pour assurer la spécificité, on utilise parallèlement deux systèmes biologiques.

- Le test biologique de Verret modifié, qui se réalise sur embryon de poulet de la façon suivante :
- Œufs fécondés, frais, ouverts au niveau de la chambre à air, désinfection à la teinture d'iode des abords.
- Injection par l'ouverture de 0,05 ml de la solution à tester. Le solvant est du chloroforme ou de l'éthanol à 70 %.
- Obturation de l'ouverture par de la colle: maintien des œufs à la température ambiante, pendant une heure.
- Mise en incubation à 37,8 °C et 50 – 60 % d'humidité relative avec rotation de 180° des œufs, matin et soir.
- Les 4^{èmes}, 6ème et 14ème jours, mirage des œufs à la lampe à mercure et élimination des œufs non fécondés ou morts.
- Le 17ème jour, réduction à 37,6°C de la température de la couveuse, augmentation à 80% de l'humidité relative.
- Le 21ème jour, décompte des œufs morts.

Ces méthodes demeurent onéreuses, difficiles à réaliser, longues et non exemptes de critiques. Il est impossible d'y recourir pour les analyses courantes, elles sont réservées au dépistage ou à la confirmation d'une analyse chimique. La plupart des laboratoires spécialisés préfèrent donc employer des méthodes chromatographiques. (Billaudelle.D, 1977)

Chapitre 5

Traitement

Et

Prophylaxie

5 TRAITEMENTS ET PROPHYLAXIE :

5.1. Traitement :

Il n'y a pas d'antidote spécifique. Retirer l'aliment contaminé et le remplacer par un aliment sain demeure le traitement le plus efficace.

5.2. Prophylaxie :

Pour pouvoir lutter contre les moisissures et les mycotoxines, il faut avant tout savoir à quel stade elles se développent.

Ainsi, il est possible de définir six moments privilégiés au cours de l'élaboration d'un produit : lors de la culture, de la récolte, du stockage, de la transformation, de l'alimentation des animaux et enfin lors de la consommation par l'être humain.

✚ Les orientations générales et spécifiques dans ce domaine, sont les suivantes :

- Limiter les dommages causés par les oiseaux et les insectes, car les moisissures ont tendance à envahir plus facilement les grains endommagés que les grains intacts
- Récolter les grains le plus tôt possible. Les moisissures comme *Fusarium* se développent rapidement dans des conditions humides.
- Sécher et entreposer adéquatement les grains pour empêcher la croissance des moisissures et la production de mycotoxines après la récolte.

- diminution de la teneur en eau avec séchage efficace et ventilation importante,
- diminution des taux d'O₂, N₂ et augmentation du taux CO₂ pour ralentir la multiplication fongique,
- utilisation de conservateurs et de fongicides au cours de la culture et du stockage ; dans certains cas, il a été envisagé une irradiation à haute dose, mais les spores fongiques y sont assez résistantes,
- sélection d'espèces végétales résistantes aux moisissures,
- Utiliser la rotation des cultures pour réduire la persistance des moisissures d'une année à l'autre
- réglementation et définition des normes.

- Décontamination

En 1979, le CIRC a initié un programme pour évaluer les méthodes physiques et chimiques de dégradation des composés à potentialité mutagène / cancérigène.

L'aflatoxine B1 et la patuline sont détruites par l'action de l'ammoniac sous pression à des températures élevées.

La chaleur humide agit sur les ochratoxines (120°C pendant 45 minutes permet la diminution de 84 % le taux d'ochratoxine A).

Les recherches d'antidotes ont permis de souligner le rôle efficace d'analogues structuraux (phénylalanine) et de l'aspartame dans les intoxications massives à l'ochratoxine A chez l'animal.

L'indol-3 carbinol, le rétinol et la vitamine A bloquent l'action de l'aflatoxine B1 et limiteraient son effet carcinogène.

Période définie	Solution proposées
Au champ	<ul style="list-style-type: none">- créer des plantes résistantes- limiter le développement par l'emploi de fongicides.- Arrosage adapté- Apport en minéraux.
A la récolte	<ul style="list-style-type: none">- Veiller a la maturité du grain.- Inspection visuelle pour éliminer les éléments abimés.- Eviter les récoltes par temps humide.
Au stockage	<ul style="list-style-type: none">- Contrôle périodique.- Maintenir une bonne température- Contrôle de l'humidité.- Détruire les produits contaminés.
A la transformation	<ul style="list-style-type: none">- Contrôle mais, plus au niveau des mycotoxine que des moisissures
Dans l'alimentation des animaux	<ul style="list-style-type: none">- Tests de contamination, puis décontamination si nécessaire
A la consommation	<ul style="list-style-type: none">- Eliminer les aliments contaminés.

	- Jouer sur la cuisson.
--	-------------------------

Tableau 05 : méthodes de lutte contre la contamination
(narbonne et al .,1999)

Chapitre 6

Risques et conséquences Des Mycotoxicooses aviaires

6. RISQUES ET CONSEQUENCES DES MYCOTOXICOSE.

6.1 Les risques des mycotoxicozes :

Avec de nouvelles réglementations les acteurs du marché de l'agro-alimentaire doivent enrichir leurs plans de contrôle de nouvelles analyses, l'objectif étant une meilleure maîtrise des risques.

6.1.1 Les risques sanitaires :

Les mycotoxicozes, parfois sérieuses et mortelles chez l'animal, sont plus rares chez l'homme. Selon le CIRC (Centre International de Recherche contre le Cancer) seule l'aflatoxine B1 possède un degré d'évidence prouvé du risque cancérigène.

Des doses journalières tolérables ont ainsi été fixées par le Comité Scientifique de l'Alimentation Humaine (CSHA) pour chaque famille de mycotoxines.

L'objectif reste d'atteindre des teneurs les plus faibles possible car tous les risques ne sont pas encore connus.

6.1.2 Les enjeux économiques

Les mycotoxines et les moisissures peuvent engendrer des problèmes économiques pour :

- les marchands de grain : qualité pauvre du grain, baisse de rendement de la production...
- les producteurs de volailles et de bétails : performances réduites des animaux et diminution de la reproduction, pertes dues aux maladies...
- l'ensemble des acteurs du marché, par l'effet de chaîne alimentaire.

Les conséquences indirectes sont :

- la production de substances non-vendables (dus à la modification de l'aspect de l'aliment, l'altération des caractéristiques organoleptiques ou chimiques),

- un prix de revient augmenté pour la détoxification (protection par les antifongiques) ou destruction lorsque les substances sont trop contaminées.

Pour les éleveurs, cela implique une augmentation des frais due à l'augmentation du coût d'achat des aliments non contaminés ou du coût entraîné par la décontamination de la nourriture ou par les soins aux animaux malades.

6.2 Les conséquences des mycotoxicooses.

6.2.1 Conséquence sur la production animale:

Les mycotoxines altèrent la production animale en agissant sur la production, sur l'immunité et sur la prise alimentaire des animaux

6.2.1.1 Poids corporel des animaux :

Les aflatoxines entraînent une perte d'appétit, une réduction du gain de poids à 0.2 ppm et une diminution de la qualité de la carcasse.

L'OTA a des teneurs de :

- 4 à 8 ppm pendant plusieurs semaines provoque une forme chronique d'ochatoxicose avec perte de poids, baisse du GMQ...
- 10 à 20 ppm entraîne une forme aiguë avec atteinte de l'état général.

6.2.1.2 Production d'œufs :

L'aflatoxine (2-10ppm) provoque un effet tératogène chez les embryons (retard de croissance, différentes malformation, mort).une réduction de la production d'œufs, une diminution de la qualité de la coquille des œufs avec une production d'œufs petits, l'éclosabilité des œufs peut chuter. (Grosjean F.2004)

L'Ochratoxine A (2 ppm) provoque une diminution du taux de ponte, des effets tératogènes chez les embryons, peut conduire a la mort embryonnaire.

Elle provoque aussi une baisse de qualité des coquilles, et une augmentation du pourcentage d'œufs contenant des taches de sang dans le jaune. (www.biomin.com)

6.2.2 Conséquence sur les produits d'origine animale :

On peut retrouver des mycotoxines ou de faibles quantités de leurs métabolites dans la viande, et les œufs

6.2.2.1 Conséquence de l'aflatoxine :

La persistance à l'état résiduel de l'AFB1 et de ses métabolites dans l'organisme semble variable selon les espèces et selon les études.

Ces variations ne sont pas toutes explicables par des différences de métabolisme entre espèces, il semble que les méthodes de détection utilisées ainsi que les procédures d'extraction de la toxine et de ses métabolites soient déterminantes.

Les données disponibles dans la plupart des publications sont souvent insuffisantes pour réellement pouvoir comparer les méthodes entre elles. Cependant il a été constaté que :

- Le foie et les reins contiennent des quantités plus élevées de toxines et/ou de métabolites que les muscles, en dehors du gésier qui est directement exposé.
- La caille semble un vecteur plus important de résidus que les autres espèces d'oiseaux.
- La poule serait un vecteur plus important de résidus que le poulet,
- Une excrétion dans les œufs étant également possible, au moins lors d'exposition à des doses élevées . (Doster.U, Sinnhuber.R et Wales.J. 1972)

L'OTA est fréquemment retrouvée dans le muscle de volaille ainsi que dans les abats et les viandes d'animaux recevant des aliments contaminés [Jorgensen, 1998]

On a pu mettre en évidence l'OTA dans le sang et les tissus où elle s'accumule au niveau rénal et hépatique [Hult *et al.*, 1984] .

Le temps nécessaire à l'élimination complète de la toxine varie de 24h à plusieurs semaines [Micco *et al.*, 1987 et 1988, Prior *et al.*, 1980].

La présence naturelle d'OTA dans des œufs commercialisés n'a pas été démontrée [Edlefsen et Brewer, 1996].

Chapitre 7

Conclusion

7. CONCLUSION

Les mycotoxines constituent une menace permanente à la santé des volailles (et par conséquence à celle des consommateurs) et à la rentabilité des exploitations avicoles.

Cela est dû, d'une part au changement caractérisant le climat (surtout ces dernières années : humidité et température élevées), et d'autre part à l'augmentation des effectifs de volailles élevées et ce qui l'a accompagné (diversité des matières premières utilisées en alimentation des volailles, multiplication du nombre des unités de fabrication des aliments de bétail et de l'importation et la culture des plantes utilisées à cette fin).

La maîtrise du risque d'apparition des mycotoxines et de mycotoxicoses nécessite une certaine vigilance de la part de tous les opérateurs du secteur agrovétérinaire et la mise en œuvre d'un certain nombre de mesures défensives (préventives) et offensives (en cas d'apparition de manifestations cliniques).

REFERENCES

Références bibliographiques :

- **Afssa. Agence française de la sécurité sanitaire des aliments.** Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. (GALTIER et LE BIZEC., al) Rapport final. Mars 2009.
- **Afssa. Agence française de la sécurité sanitaire des aliments.** Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. (GALTIER et LE BIZEC et JANIN., al) Rapport synthétique .décembre 2006.
- **Arora, R.G. & Frölen, H. (1981).** - Interference of mycotoxins with prenatal development of the mouse. 2. Ochratoxin A induced teratogenic effects in relation to the dose and stage of gestation. Acta Vet. Scand
- **Barnes.J.1970.**-aflatoxine as a health hazard. The journal of applied bacteriology,33 n02
- **Billaudelle. D, 1977.**Moisissures et mycotoxines dans les denrées alimentaires animales et d'origine animale. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse 1977.
- **Boiron.P.2005/2006.**-laboratoire de mycologie faculté de pharmacie.Lyon.France.
- **Bouhouche.M et Merzoug.N .2007.** Les mycotoxicoses chez les volailles mémoire pour obtenir le grade de docteur vétérinaire département vétérinaire el-khroub. Algérie

- **Breitholtz-Emanuelsson A., Fuchs R., Hult K., (1995)**, Toxicokinetics of ochratoxin A in rat following intratracheal administration, *Natural Toxins*
- **Bryden, W.L. (1998)**.- Mycotoxin Contamination of Australian Pastures and Feedstuffs In : Toxic plants and other natural toxicants. Edited by Garland, T. & Barr, C. CAB international. 464-466. Wallington (GBR). 585p, 1 vol.
- **Burns, R.B. et Maxwell, M.H. (1987)**.- Ochratoxicosis A in young Khabi Campbell duclings.- Res. Vet. Sci, **42**, 395-403.
- **Castegnaro M., Pfohl-Leszkowicz A., (2002)**, Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans *La sécurité alimentaire du consommateur*, Lavoisier, Tec&Doc
- **Cole R.J., Cox R.H., (1981)**, Handbook of Toxic Fungal Metabolites, New York, Academic Press.
- **Collet.J, Marchechal.J et Regnier.J. 1976**.-les mycotoxine dans l'aliment du bétail. Aflatoxine B et G. bulletin technique de l'union des coopératives agricoles d'alimentation du bétail N°3
- **Doster.U, Sinnhuber.R et Wales.J. 1972**.-actue intraperitoneal toxicity of ochratoxine A and B in rainbow trout (*Salmo gairdneri*).Food and Cosmetics toxicology,10 N°1
- **Dwivedi, R. & Burns, R.B. (1984a)**.- Pathology of ochratoxicosis in young broiler chicks.- Research in Veterinary Science,

- **Djessas .R.I et Mohammedi.S 2008.**-mycotoxine : impact sur les performances zootechniques et moyens de prévention. Projet de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Docteur Vétérinaire. Ecole National Supérieur d'Alger. Algérie
- **El-Dessouki S.**, (1992), Ochratoxin A in bier, *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*,
- **Elling, F., Hald, B., Jacobsen, C. & Krogh, P. (1975).**- Spontaneous cases of toxic nephropathy in poultry associated with Ochratoxin A.- *Acta Path. Micro. Sc.*Section A,
- **Friend M et Franson J. C, 1999** Mycotoxins p 267-270 *Field Manual of Wildlife Diseases. General Field Procedures and Diseases of Birds.* Edition : USGS, 1999.
- **Guerre.P.2000**-intérêt des traitements des matières premières et de l'usage d'absorbants lors d'une contamination des aliments du bétail par des mycotoxines. *Revue de Méd. Vét.*151, 12.1095-1106.
- **Hamilton, P.B., Huff, W.E. & Harris, J.R. (1977).**- Field episodes of ochratoxicosis in poultry.- *Poultry Science*,
- **Hamilton, P.B., Huff, W.E., Harris, J.R. et Wyatt, R.D. (1982).**- Natural occurrences of ochratoxicosis in Poultry.- *Poultry Science* **61**.
- **Hayes.A ,Cain.J et Moore.B.1977.**-effect of aflatoxin B1, ochratoxin A and rubratoxin B on infant rats.*Food and cosmetics toxicology*,15 N°1

- **Höhler, D. (1998).**- Ochratoxin A in food and feed : occurrence, legislation and mode of action.- Z.Ernährungswiss.
- **Holmberg, T., Breitholtz-emanuelson, A., Haggblom, P., Schan, O. et Hult, K. (1991).**- *Penicillium verrucosum* in feed of ochratoxin A positive swine herds.- Mycopathologia,
- **Hollinger et Ekperigin, H.E. (1999).**- Mycotoxicosis in food producing animals.- Food animal practice, vol. 15, N°1
- **Hult, K., Rutqvist, L., Holmberg, T., Thafvelin, B. et Gatenberg, S.(1984).**- Ochratoxin A in blood of slaughter pigs.- Nord.Vet.-Med.,
- **I.A.R.C. (1993),** Some naturally occurring substances, food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins, *In* Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human, World Health Organization, Lyon, France.
- **Jorgensen, K. (1998).**- Survey of pork, poultry, coffee, beer and pulses for ochratoxin A.- Food Addit. Contam.,
- **Kubena, L. F., Harvey, R. B., Fletcher, O. J., Phillips, T. D., Mollenhauer, H. H., Witzel, D. A. et Heidelbaugh, N. D. (1985).**- Toxicity of ochratoxin A and Vanadium to Growing Chicks.- Poultry Science,
- **Luster, M.I., Germolec, D.R., Burleson, G.R., Jameson, C.W., Ackermann, M.F., Lamm, K.R. et Hayes, H.T. (1987).**- Selective immunosuppression in mice of natural killer cell activity by ochratoxin A.- Cancer Res.,

- **Majerus P., Cutko I., Dreyer A., El-Dessouki S., Eyrich W., Reusch H., Schurer B., Waiblinger H.U., (1993)**, Zur Belastungssituation von Ochratoxin A, in *Lebensmittel pflanzlichen Ursprungs*, Deutsche Lebensmittel-Rundschau,.
- **Marquardt R.R., Frohlich A.A., (1992)**, A review of recent advances in understanding ochratoxicosis, *J. Anim. Sci.*,
- **Maselli.J.1977.**-controlling aflatoxine in your plant.the manufacturing confection.57 N°2
- **Maxwell, M.H. & Burns, R.B. (1987).**- Ultrastructural study of ochratoxicosis in quail (*Coturnix coturnix japonica*).- Res. in Vet. Sci.,
- **Micco, C., Miraglia, M., Benelli, L., Onori, R., Ioppolo, A. & Mantovani, A. (1988).**- Long term administration of low doses of mycotoxins in poultry. 2. Residues of ochratoxin A and aflatoxins in broilers and laying hens after combined administration of ochratoxin A and aflatoxin B1. Food Addit. Contam.,
- **Micco, C., Miraglia, M., Onori, R., Ioppolo, A. & Mantovani, A. (1987).**- Long term administration of low doses of mycotoxins in poultry. I. Residues of ochratoxin A in broilers and laying hens.- Poultry Science,
- **Mohammedi.D 2011.**-les mycotoxicose. Extraits de toxicologie de 5^e année
- **Narbonne.Jf 1999.** Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque.tec et doc, 1999., paris tableau page 13.

- **Page, R.K., Stewart, G., Wyatt, R., Bush, P., Fletcher, O.J. et Brown, J. (1980).**- Influence of low levels of ochratoxin A on egg production, egg-shell stains, and serum uric-acid levels in Leghorn-type hens.- Avian diseases, vol.24,
- **Peckham, J., Doupnik, B. et Jones, O. 1971.**-acute toxicity of ochratoxin A and B in chicks. applied microbiology, 21 N°3
- **Pfohl-Leszkowicz A., (2001),** Définition et origines des mycotoxines in *Les mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque*, Ed. Tec & Doc, 3-14.
- **Pitt J.I., (2000),** Toxigenic fungi and mycotoxins, Br. Med. Bull., 56 (1), 184 - 192.
- **Pohland, A.E., Neisheim, S. & Friedman, L. (1992).**- Ochratoxin A, a review.-Pure Appl. Chem.,
- **Prior, M. G., O'neil, J.B. & Sisodia, C.S. (1980).**- Effects of ochratoxin A on growth response and residues in broilers. Poultry Sci
- **Prior, M., Sisodia, C. et O'neil, J. 1976.**-acute oral ochratoxicosis in day-old White Leghorns, Turkeys and Japanese quail. Poultry Science, 55 N°2
- **Prior, M.G. et Sisodia, C.S. (1978).**- Ochratoxicosis in White Leghorn Hens.-Poultry Sci.,

- **Prior M., G., Sisodia, C.S., O' Neil, J.B. et Hrudka, F. (1979).**- Effect of ochratoxin A on fertility and embryo viability of japanese quail (*coturnix coturnix japonica*).- Can. J. Anim.
- **Purchase.I et Theron. J.1968.** - the actue toxicity of ochratoxin A to rats. Food and Cosmetics toxicology ,6 N°4
- **Ribelin W.E., Fukushima K., Still P., (1978),** The toxicity of ochratoxin A to ruminants Canadian *J. Comp. Med.*,
- **Rouvier. M.2002.** L'ochratoxine a : nature, origine et toxicité. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Ecole National Vétérinaire de Toulouse. (2002 – TOU 3 – 4204) .
- **Stoev, S.D. (2000).**- Ultrastructural and antidote investigations into the experimental Intoxication of chickens with ochratoxin A and penicillic acid.- *Folia Veterinaria*, vol 44,No2.
- **Stojkovic, R., Hult, K., Gamulin, S. et Plestina, R. (1984).**- High affinity binding of Ochratoxin A to plasma constituents. *Biochem.*
- **Stormer, F.C., Storen, O., Hansen, C.E., Pedersen, J.L., Hvistendahl, G. et Assen, J. (1981).**- Formation of (4R)- and (4S)-4-hydroxyochratoxin A from ochratoxin A by liver microsomes from various species.- *Appl. Environ. Microbiol.*,
- **Tabuc.C.2007.** flore fongique de differents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse pour obtenir le titre de docteur vétérinaire. L'institut national polytechnique de Toulouse.

- **Varga, J., Kevei, E., Rimyn, E., Teren, J. et Kazakiewicz, Z. (1996).**- Ochratoxin production by *Aspergillus* species.- Appl. Environ. Microbiol.,
- **Zimmerli B, Dick R, (1996),** Ochratoxin A in table wine and grape juice : occurrence and risk assessment, *Food Addit. Contam*

ANNEXE

ANNEXES :

Tableau 1 : Exemple de produits contaminés par moisissures toxigènes (Boiron.P)

Denrées	Espèces toxiques contaminants	Mycotoxines probables
Blé, farine, pain, maïs chips	- <i>Aspergillus flavus</i> , <i>A.ochraceus</i> , <i>A.versicolor</i> - <i>Penicillium citrinum</i> , <i>P.citreoviride</i> , <i>P.cyclopium</i> , <i>P.martensii</i> , <i>P.pubertum</i> , <i>P.pubertum</i> - <i>Fusarium moniliforme</i>	Aflatoxines, Ochratoxine, A Stérigmatocystine Acide penicillium Pauline Désoxynivalénol(DON) Zéaralénone fumonisine
Arachide, noix	- <i>Aspergillus flavus</i> , <i>A.Ochraceus</i> , <i>A.versicolor</i> - <i>Penicillium citrinum</i> , <i>P.cyclopium</i> , <i>P.expansum</i>	Aflatoxine, Ochratoxine A Stérigmatocystine Trichothécènes Cytochalasines Acide cyclopiazonique
Fèves, orge, maïs, sorgho, soja	- <i>Apergillus flavus</i> , <i>A.Ochraceus</i> , <i>A.versicolor</i> - <i>Penicillum citrinum</i> , <i>P.cyclopium</i> , <i>P.viridicatum</i> , <i>P.expansum</i> , <i>P.islandicum</i> , <i>P.urticae</i> - <i>fusarium moniliforme</i> - <i>Alternaria</i>	Aflatoxine,Ochratoxine A Stérigmatocystine Acide pénicillique Citrine Patuline Griséofulvine Alternariol

Tableau 03 : Effet des principales mycotoxines et mécanismes d'action cellulaires et moléculaires identifiés

Toxine	Effets	Mécanisme d'action cellulaires et moléculaires
Aflatoxine B1 + M1	Hépatotoxicité Génotoxicité Cancérogénicité Immunomodulation	Formation d'adduit à l'ADN Peroxydation lipidique Bioactivation par des cytochromes P450 Conjugaison aux Glutathion-transférases
Ochratoxine A	Néphrotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Impact sur la synthèse des protéines Inhibition de la production d'ADP Détoxification par les peptidases
Patuline	Neurotoxicité Mutagenèse in vitro	Inhibition indirecte d'enzymes
Tricothécènes (groupe A et B)	Hépatotoxicité Immunomodulation Toxicité cutanée	Induction de l'apoptose sur progéniteur Hématopoïétique et cellules immunitaire Impact sur la synthèse des protéines Altération des immunoglobulines
Zéaralène	Fertilité et Reproduction	Liaison aux récepteurs oestrogéniques Bioactivation par des déshydrogénases Conjugaison aux Glucuronyltransférases
Fumonisine B1	Lésion du système nerveux central Hépatotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Inhibition de la synthèse de céramide Altération du rapport sphinganine/sphingosine Altération du cycle cellulaire

Tableau 03 : Effet des principales mycotoxines et mécanismes d'action cellulaires et moléculaires identifiés. (Afssa.Mars2009)

Toxine	Effets	Mécanisme d'action cellulaires et moléculaires
Aflatoxine B1 + M1	Hépatotoxicité Génotoxicité Cancérogénicité Immunomodulation	Formation d'adduit à l'ADN Peroxydation lipidique Bioactivation par des cytochromes P450 Conjugaison aux Glutathion-transférases
Ochratoxine A	Néphrotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Impact sur la synthèse des protéines Inhibition de la production d'ADP Détoxification par les peptidases
Patuline	Neurotoxicité Mutagenèse in vitro	Inhibition indirecte d'enzymes
Tricothécènes (groupe A et B)	Hépatotoxicité Immunomodulation Toxicité cutanée	Induction de l'apoptose sur progéniteur Hématopoïétique et cellules immunitaire Impact sur la synthèse des protéines Altération des immunoglobulines
Zéaralène	Fertilité et Reproduction	Liaison aux récepteurs oestrogéniques Bioactivation par des déshydrogénases Conjugaison aux Glucuronyltransférases
Fumonisine B1	Lésion du système nerveux central Hépatotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Inhibition de la synthèse de céramide Altération du rapport sphinganine/sphingosine Altération du cycle cellulaire

Tableau 4 : Conditions d'intoxication par les aflatoxines chez les volailles

Espèce	Régime	Tissu	Teneur	Commentaire	Ref
Dinde	50 et 150 µg/kg 11sem ^a	foie	0,02-0,09 et 0,11-0,23	AFB1 + AFM1	Richard et al., 1986
		reins	0,02-0,04 et 0,11-0,21	AFB1 + AFM1	
		gésier	0,04-0,16 et 0,01-0,12	AFB1 (AFM1<0,01)	
		foie	<0,01	AFB1 et AFM1	
Caille	3 000µg/kg 8j ^b	reins	<0,01	AFB1 et AFM1	Birtchok et al., 2002
		gésier	0,04-1,9 et 0,09-0,24	AFB1 (AFM1<0,01)	
		foie	7,83 ± 0,49 et 5,31 ± 0,22	AFB1 libre et conjuguée	
		muscle	22,34 ± 2,40 et 10,54 ± 0,42	Métabolites libres et conjugués	
Canard	3 000µg/kg 8j ^b	muscle	0,38 ± 0,03 et <0,03	AFB1 libre et conjuguée	
		foie	0,82 ± 0,05 et 0,32 et 0,08	Métabolites libres et conjugués	
		muscle	0,52 ± 0,04 et 0,44 ± 0,16	AFB1 libre et conjuguée	
		foie	2,74 ± 0,15 et 3,81 ± 0,25	Métabolites libres et conjugués.	
Poulet	3 000µg/kg 8j ^b	muscle	<0,03 et <0,03	AFB1 libre et conjuguée	
		foie	0,21 ± 0,09 et 0,14 et 0,05	Métabolites libres et conjugués	
		muscle	0,15 ± 0,09 et 0,10 ± 0,01	AFB1 libre et conjuguée	
		foie	1,54 ± 0,36 et 0,93 ± 0,04	Métabolites libres et conjugués.	
Poule	3 000µg/kg 8j ^b	muscle	<0,03 et <0,03	AFB1 libre et conjuguée	
		foie	0,11 ± 0,02 et 0,08 et 0,05	Métabolites libres et conjugués	
		muscle	0,34 ± 0,03 et 0,23 ± 0,08	AFB1 libre et conjuguée	
		foie	2,38 ± 0,36 et 4,04 ± 0,10	Métabolites libres et conjugués	
Poule pondreuse	10 000µg/kg 7j ^c	muscle	<0,03 et <0,03	AFB1 libre et conjuguée	Qureshi et al., 1998
		foie	0,14 ± 0,04 et 0,11 ± 0,04	Métabolites libres et conjugués	
		oeufs	0,28 ± 0,10 et 0,38 ± 0,11	AFB1 et AF totales	
		foie	0,49 ± 0,28 et 0,20 ± 0,09	AFB1 et AF totales	
Poule pondreuse	8 000ppb 7j ^c	reins	0,32 ± 0,18 et 0,10 ± 0,04 et 0,05 ± 0,02	AFB1 et AF totales et AFM1	Trucksess et al., 1983a
		muscle	0,08 ± 0,03	AF totales	
		oeufs	0,24 ± 0,07 et 0,25 ± 0,09	AFB1 et AF totales	
		foie	4,13 ± 1,95	AFB1	
Poulet	55µg/kg 9j	oeufs	<0,5 et < 0,01	AFB1 et AFM1	Zaghini et al., 2005
		foie	0,26 et 0,02	AFB1 et AFM1	
	4 448µg/kg 9j	foie	1,52 et <0,1	AFB1 et AFM1	Madden et Stahr, 1992

^a Des données sont disponibles à 13 semaines, elles ne suggèrent pas une accumulation

^b Des données sont disponibles à 11 jours, elles ne suggèrent pas une accumulation

^c Des données sont disponibles à 14 jours, elles ne suggèrent pas une accumulation

^d La distribution d'un aliment indemne pendant 7 jours entraîne une disparition quasi-totale de l'AFB1 et de ses métabolites

Tableau 5 : Calculs de contamination en l'aflatoxine B1 des rations destinées aux volailles

		contamination minimale calculée		contamination des positifs			Dir 2002/32/CE valeurs limites (en µg/kg)
		en µg/kg d'aliment	part de la ration (en %)	au p75 en µg/kg d'aliment	au p95	part de la ration (en %)	
Poulet standard	démarrage	0.156	93.3	0.448	5.237	53.3	10
	croissance	0.163	93.2	0.387	4.377	43.2	20
	finition	0.132	84.6	0.274	3.031	29.6	20
	retrait	0.097	84.0	0.202	2.349	23.9	20
Poulet label	démarrage	0.163	96.4	0.624	5.487	65.2	10
	croissance	0.144	96.7	0.638	4.374	60.6	20
	finition-retrait	0.158	96.8	0.611	4.072	57.4	20
Poule pondeuse	démarrage	0.168	94.1	0.544	4.646	56.2	10
	croissance	0.149	94.3	0.485	3.649	47.7	20
	repro-entretien	0.155	95.0	0.472	3.378	45.5	20
	pondeuse	0.159	88.9	0.568	4.334	54.0	20
Dinde	démarrage	0.172	88.0	0.420	6.371	57.1	10
	croissance 1	0.156	84.8	0.289	4.882	41.8	20
	croissance 2	0.158	89.4	0.291	4.590	40.5	20
	finition 1	0.145	87.9	0.369	4.296	42.9	20
	finition 2	0.135	87.5	0.198	2.930	26.6	20
	finition 3	0.096	81.2	0.180	2.394	22.9	20
Pintade	démarrage	0.195	93.8	0.792	6.625	81.1	10
	croissance	0.160	86.3	0.806	5.497	76.3	20
	finition-retrait	0.164	87.4	0.892	5.643	82.4	20
Canard Barbarie	canard démarrage	0.127	92,1	0.390	3.685	42,1	10
	canard croissance	0.113	93,2	0.365	2.819	36,2	20
	canard finition	0.093	89,3	0.295	1.886	27,4	20
Canard prêt à gaver	élevage	0.140	95,0	0.563	4.180	55,0	10
	gavage	0.158	98,0	1.225	4.704	98,0	20

Tableau 6 : Calculs de contamination en OTA des rations destinées aux volailles

		Contamination minimale calculée		contamination des positifs			Rec 2006/576/CE Teneurs max (en µg/kg)
		en µg/kg d'aliment	% de la ration	en µg/kg d'aliment		% de la ration	
				au p75	au p95		
Poulet standard	démarrage	0.646	93.3	0.840	2.126	93.3	100
	croissance	0.634	90.2	0.841	2.360	90.2	100
	finition	0.573	81.6	0.778	2.403	81.6	100
	retrait	0.578	84.0	0.798	2.572	84.0	100
Poulet label	démarrage	0.596	96.4	0.791	1.938	96.4	100
	croissance	0.543	96.7	0.759	2.103	96.7	100
	finition-retrait	0.512	92.4	0.723	2.041	92.4	100
Poule pondeuse	démarrage	0.553	89.1	0.757	1.866	89.1	100
	croissance	0.548	89.3	0.784	2.061	89.3	100
	repro-entretien	0.533	87.5	0.774	2.031	87.5	100
	pondeuse	0.528	85.9	0.741	1.852	85.9	100
Dinde	démarrage	0.672	88.0	0.830	1.789	88.0	100
	croissance 1	0.629	81.8	0.796	1.970	81.8	100
	croissance 2	0.640	85.4	0.824	2.152	85.4	100
	finition 1	0.605	86.6	0.799	2.188	86.6	100
	finition 2	0.588	81.5	0.790	2.394	81.5	100
	finition 3	0.571	81.2	0.782	2.489	81.2	100
Pintade	démarrage	0.525	91.1	0.683	1.332	91.1	100
	croissance	0.437	86.3	0.601	1.306	86.3	100
	finition-retrait	0.409	87.4	0.572	1.197	87.4	100
Canard Barbarie	canard démarrage	0.599	92.1	0.819	2.404	92.1	100
	canard croissance	0.582	93.2	0.821	2.620	93.2	100
	canard finition	0.549	89.3	0.793	2.715	89.3	100
Canard prêt à gaver	élevage	0.557	95.0	0.775	2.193	95.0	100
	gavage	0.281	98.0	0.490	1.274	98.0	100

Tableau 7 : Différents effets de l'OTA sur le tube proximal et le tube collecteur (Boiron. P 2005 /2006)

	tube proximal	tube collecteur
Faible dose	<p>Inhibition non compétitive du système de transport des anions organiques.</p> <p>Inhibition du système de transport des cations organiques</p> <p>Prolifération cellulaire et hypertrophie</p> <p>Diminution de la réabsorption des Protéines</p>	<p>Blocage des canaux ioniques de la membrane plasmique et du $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$</p> <p>Altération de l'homéostasie du PH et du Cl^-, et du transport transépithélial des électrolytes et H^+^{55,77}</p> <p>Activation d'ERK1/2⁷⁷</p> <p>Dédifférenciation cellulaire⁷⁷</p>
Forte dose	<p>Diminution de la viabilité cellulaire</p> <p>Membrane plasmique perméable</p> <p>Inhibition de la synthèse d'ADN</p> <p>Inhibition de la synthèse protéique</p> <p>Inhibition de la prolifération cellulaire</p> <p>Détachement cellulaire et diminution générale du transport</p>	<p>Diminution de la viabilité cellulaire</p> <p>Membrane plasmique perméable</p> <p>Inhibition de la synthèse d'ADN</p> <p>Inhibition de la synthèse protéique</p> <p>Inhibition de la prolifération cellulaire</p> <p>Détachement cellulaire et diminution générale du transport</p>

Tableau 8 : Efficacité comparée des méthodes physiques de décontamination. (Guerre. P.2000)

Méthode	Aliment	Toxine	Efficacité
Nettoyage et élimination			
Tri électronique/manuel	Arachides	Aflatoxines	++
Flottaison et séparation (densité)	Arachides, Maïs	Aflatoxines	+++
Tamisage	Maïs	Fumonisines	+++
Nettoyage et polissage	Blé	Déoxynivalénol	--
Broyage et séparation			
Broyage humide	Maïs	Aflatoxines	+/-
		Zéaralenone	+/-
Trempage	Maïs	Fumonisines	++
	Blé	Déoxynivalénol	++
	Maïs	Ochratoxine A	++
Broyage a sec	Maïs	Aflatoxines	+/-
		zéaralenone	+/-
Traitements thermiques			
Chaleur humide	Tous aliments	Aflatoxines	+ou-
	Maïs	Fumonisines	+ou-
Grillage	Tous aliments	Aflatoxines	+ou-
Chaleur sèche	Farine	Ochratoxines	++
Chaleur	Tous aliments	Trichothéchènes	-
Irradiation	Tous aliments	Aflatoxines	-

++ : élimination ou dénaturation à plus de 90%

++ : élimination ou dénaturation comprise entre 70 et 90%

+ : élimination ou dénaturation comprise entre 50 et 70%

- : élimination ou dénaturation inférieure à 50 %

+/- : élimination dans certaines fractions, mais concentration dans d'autres

+ou- : élimination modérée, variable selon le traitement effectué

**Tableau 9 : Efficacité comparée des méthodes chimiques de décontamination.
(Guerre. P.2000)**

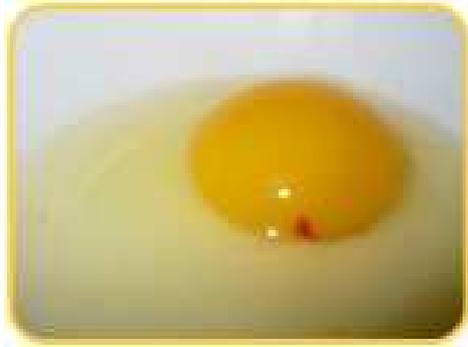
Méthode	Toxine	Efficacité
Acides et bases		
Ammoniation	Aflatoxines	+++
	Fumonisines	?
Nixtamalisation	Aflatoxines	+et ?
	Fumonisines	?
Nixtamalisation+H2O2	Fumonisines	+
Oxydants et Réducteurs		
Eau oxygénée	Aflatoxines	+
Bisulfites	Aflatoxines	+
Glucose,Fructose	Fumonisines	+

+++ : Dénaturation et diminution importante de la toxicité

+ : Effet bénéfique

- : Effet néfaste

? : Dénaturation sans modification de la toxicité.



**Photo 1 :Tache de sang dans le jaune d'œuf
(OTA, Aflatoxine)**



**photo 2 : Stéatose hépatique chez la
volaille (Aflatoxose)**



Photo3 : Nécrose buccale chez la dinde



**photo4 : Nécrose buccale chez la volaille
(AFB1,T-2,DAS ,Nivalénol)**



**Photo5 : Retard de croissance chez la volaille
(AFB1,T-2,DAS ,Nivalénol)**

