

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université M'Hamed Bougara de Boumerdès
Faculté des sciences
Département de Biologie



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme
Master en Science de la Nature et de la Vie

OPTION : Biochimie Appliquée

Thème

Les mycotoxines dans les céréales. Etat actuel des connaissances et stratégies de lutte.

Réalisé Par : Hamadache Asma

Issaoun Amet El Bari

Devant le jury :

MOKRANE Salim

Professeur

Président

ZEBIRI Saliha

Docteur

Examinateur

RIBA Amar

Professeur

Promoteur

Promotion : «2019 / 2020»

Remerciements

*Nous tenons d'abord à dire EL
HAMDOULAH et donc à remercier le bon Dieu qui nous a
donné le courage pour mener
à bien ce travail*

*Nous remercions très sincèrement notre
promoteur monsieur
RIBA AMAR qui a accepté de nous encadrer durant la
réalisation de
ce travail.*

*Nous tenons aussi à exprimer nos vifs remerciements pour
la doctorante M^{elle} KHOUNI HAYAT pour son aide et sa
disponibilité.*

*Nous tenons à remercier le personnel du laboratoire LBSM
de l'ENS Kouba pour leur accueil pendant notre stage qui
a été malheureusement suspendu à cause de la pandémie.*

*Nous remercions également les membres de
jury d'avoir accepté d'examiner notre
travail.*

*Enfin, nous tenons à adresser les
expressions de gratitude envers nos
enseignants du département de biologie ainsi que nos
camarades de la section biochimie.*



Dédicace

Je dédie ce travail A :

*Mes parents pour leur soutien, leur éducation,
leurs encouragements et leur affection.*

Mes deux frères, Walid et Ayoub.

*Mes ami(e)s et mes camarades, en particulier
ceux et celles du club scientifique Bio-Best où j'ai
passé de bons moments et j'ai acquis beaucoup de
compétences.*

Asma.





Dédicace

Je dédie ce travail À :

- ✓ *Mes chers parents*
- ✓ *Mes chères familles surtout ma petite sœur Naila*
- ✓ *Tous mes amis.*

Je dédie également ce travail à tous ceux qui m'ont encouragée à braver les difficultés que j'ai rencontrées pendant l'élaboration de ce mémoire.

Amet El Bari.



Liste des abréviations

°C : Degrés Celsius.

µg : microgramme (10^{-6} g).

AC : Anticorps.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ADNr: ADN ribosomique.

AF: Aflatoxine.

Ag: Antigène.

ASS (ou SAA) : Afrique sub-saharienne.

a_w : water activity.

BEA : Beauvéricine.

BLAST : Basic local alignment search tool.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

CCP : Critical control point.

CE : Comité Européenne.

CFU (ou UFC) : Colonie Formant Unité.

CIT : Citrinine.

CPA : Acide cyclopiazonique.

Da : Dalton.

DAS : Diacétoxyscirpénol.

DON : Déoxynivalénol.

Efsa : European food safety authority (Autorité européenne de sécurité des aliments).

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay.

ENN : Enniatine.

FAO : Food and Agriculture Organisation.

FB : Fumonosine B.

FUM : Fumonosine.

FUS : Fusaproliférine.

F-X : Fusarénone X.

GAP: Good agricultural practices.

GC : Gas chromatography (chromatographie en phase gazeuse).

HACCP: Hazard Analysis Critical Control Point.

HPLC: High performance liquid chromatography.

IAC : Immuno Affinity Column.

IGS : Espaceur intergénique.

ITS : Espaceur interne transcrit.

LAB : Lactic acid bacteria.

LC : Chromatographie Liquide.

min : minute.

MON : Monoliformine.

MS : Mass Spectrometry.

NCBI : National Center for Biotechnology.

NEO : Néosolanol.

NIV : Nivalénol.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

OT : Ochratoxine.

pb : Paire de base.

PCR:: Polymerase Chain Reaction.

pH : potentiel hydrogène.

RAPD : Polymorphisme de l'ADN amplifié au hasard.

RFLP : Polymorphismes de longueur des fragments de restriction.

TCT : Trichothécènes.

UE : Union Européenne.

UV : Ultra-Violet.

ZEA : Zéaralénone.

Liste des tableaux et Figures

Liste des tableaux

Tableau 1. Origine chimique des mycotoxines.....	4
Tableau 2. Types et structures chimiques des toxines de <i>Fusarium</i>	8
Tableau 3. Mycotoxines « émergentes » susceptibles d'être présentes sur les céréales et champignons producteurs.....	8
Tableau 4. Les principales espèces d' <i>Aspergillus Flavi</i> producteurs des mycotoxines.....	15
Tableau 5. Les espèces les plus courantes dans la section d' <i>Aspergillus Nigri</i>	15
Tableau 6. Les principales espèces de <i>Penicillium</i> et leur toxigénicité.....	17
Tableau 7. Quelques espèces de <i>Fusarium</i> producteurs des mycotoxines.....	17
Tableau 8. Activité de l'eau et relations microbiennes avec l'eau en perspective.....	27
Tableau 9. Impact de la restriction d'O ₂ sur <i>Fusarium proliferatum</i> et la production de FB ₁	28
Tableau 10. Règlement européen fixant les limites maximales en certains produits destinés à l'alimentation humaine.....	36
Tableau 11. Recommandation européenne pour les concentrations de T-2 et HT-2 dans les aliments destinés aux Hommes.....	36
Tableau 12. Limites maximales des mycotoxines dans les denrées destinées à l'alimentation humaine selon certains pays.....	37
Tableau 13. Les principales mycotoxines présentes dans le maïs.....	50
Tableau 14. L'influence du climat sur l'incidence des <i>A. flavus</i> dans le maïs de différentes régions au Kenya.....	50
Tableau 15. La répartition des fumonisines en Afrique subsaharienne dans le maïs	51
Tableau 16. L'incidence des champignons toxigènes et les mycotoxines produites dans le maïs indien.....	51
Tableau 17. La répartition mondiale des aflatoxines dans le riz.....	54
Tableau 18. Etudes récentes sur la décontamination des céréales par des méthodes physiques.....	61
Tableau 19. Plan HACCP du maïs.....	64

Listes des figures

Figure 1. Les différentes structures chimiques des aflatoxines.....	5
Figure 2. Structure des différentes ochratoxines et leurs analogues (voir le tableau).....	5
Figure 3. Voies d'atteinte des AFs à l'organisme humain.....	11
Figure 4. Aspects morphologiques d' <i>Aspergillus Flavi</i>	15
Figure 5. Aspects macroscopique (a) et microscopique (b) d' <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i>	17
Figure 6. Aspects morphologiques du genre <i>Penicillium</i>	18
Figure 7. Aspects macroscopiques (a) et microscopiques (b) du genre <i>Fusarium</i>	18
Figure 8. Structures micromorphologiques des moisissures rencontrées couramment dans les céréales.....	24

Figure 9. Electrophorèse sur gel d'agarose montrant une amplification de 431 pb. (ITS) fragment de la région d'espaceur transcrit interne de genre <i>Fusarium</i>	24
Figure 10. Diagramme schématique montrant l'influence combinée de l'activité de l'eau et du pH sur la croissance microbienne	28
Figure 11. Les techniques modernes et traditionnelles pour la détection des mycotoxines (exemple des aflatoxines) et des champignons toxinogènes dans un échantillon donné	34
Figure 12. La répartition d' <i>A. Flavus</i> et la production des aflatoxines dans quatre régions de culture de maïs au Kenya	50

Résumé

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires hautement toxiques produites par certaines espèces de champignons toxigènes appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Parmi les principales mycotoxines induisant des effets aigus et chroniques : les aflatoxines, l'ochratoxine A, les fumonisines, la zearalénone et les trichothécènes (DON, NIV, T-2 et HT-2). Les céréales en particulier le blé, le maïs et le riz et leurs dérivés sont les plus exposés à la contamination par les mycotoxines surtout dans les pays en voie de développement. Les conditions environnementales défavorables et le stockage inadéquat sont les principaux facteurs favorisant la croissance fongique et la toxigenèse. Différentes techniques analytiques telles que HPLC et LC-MS/MS principalement ont été utilisées pour la détection des mycotoxines. En raison des teneurs élevées trouvées pour certaines mycotoxines, l'application des stratégies efficaces telles que l'HACCP doit être nécessaire pour leur prévention, contrôle, et surveillance périodique. Ce travail fait le point sur l'état actuel des connaissances sur la contamination des céréales par les mycotoxines, les procédures d'analyse utilisées pour la détection des champignons toxigènes et les mycotoxines et les mesures de contrôle existantes.

Mots clés : mycotoxines, champignons toxigènes, céréales, contamination, Maghreb.

Abstract

Mycotoxins are highly toxic secondary metabolites produced by certain species of toxigenic fungi belonging to *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*. Among the principal mycotoxins that induce acute and chronic effects: aflatoxins, ochratoxin A, fumonosins, zearalenon and trichotecenes (in particular DON, NIV, T-2 and HT-2). Cereals, in particular wheat, corn and rice and their products are the most exposed to the contamination by mycotoxins mainly in developing countries. Unfavorable environmental conditions and inappropriate storage are noted amongst principal factors promoting fungal growth and toxinogenesis. Various analytical techniques such as HPLC and LC-MS/MS are mostly used for mycotoxins' detection. Owing to high contents found for some mycotoxins, application of effective strategies like HACCP must be necessary for their prevention, control and frequent monitoring. This work highlights the current state of cereals' contamination by mycotoxins, analysis procedures used for the detection of toxigenic fungi and mycotoxins and existing control measures.

Keyword: mycotoxins, toxigenic fungi, cereals, contamination, Maghreb.

ملخص

السموم الفطرية هي مستقلبات ثانوية عالية السمية تنتجها أنواع معينة من الفطريات المسببة للسموم التي تنتمي إلى *Aspergillus*، *Penicillium* و *Fusarium*. من بين السموم الفطرية الرئيسية التي تسبب تأثيرات حادة ومزمنة تم العثور عليها: الأفلاتوكسين، الأوكرااتوكسين A ، الفومونوزين ، الزيرالينون والتريكويسين (على وجه الخصوص DON و NIV و T-2 و HT-2). تعتبر الحبوب ، ولا سيما القمح والذرة والأرز ومنتجاتها ، الأكثر عرضة للتلوث بالسموم الفطرية في البلدان النامية بشكل رئيسي. تعتبر الظروف البيئية غير المواتية والتخزين غير المناسب من بين العوامل الرئيسية التي تعزز نمو الفطريات وتكوين السموم. تستخدم تقنيات تحليلية مختلفة مثل HPLC و LC-MS / MS في الغالب للكشف عن السموم الفطرية. نظرًا للمحتويات العالية الموجودة لبعض السموم الفطرية، يجب أن يكون تطبيق استراتيجيات فعالة مثل HACCP ضروريًا لمنعها ومكافحتها ورصدها بشكل متكرر. يسلط هذا العمل الضوء على الحالة الراهنة لتلوث الحبوب بالسموم الفطرية، التحليلات المستخدمة للكشف عن الفطريات المسببة للسموم والسموم الفطرية في الحبوب وتدابير المكافحة الحالية.

الكلمات المفتاحية: السموم الفطرية، الفطريات السامة، الحبوب ، التلوث ، المغرب العربي

SOMMAIRE

Introduction générale.....	1
Chapitre I.....	3
1. Généralités.....	3
2. Les principales mycotoxines	4
2.1 Les aflatoxines	4
2.2 Les ochratoxines	6
2.3 Les toxines de <i>Fusarium</i>	6
3. Impact sur la santé et sur l'économie	9
3.1 Cas de la contamination par les aflatoxines	10
3.2 Cas de la contamination par OTA	12
3.3 Cas de la contamination par les mycotoxines de <i>Fusarium</i>	12
4. Les principaux genres fongiques toxinogènes	14
4.1 Genre <i>Aspergillus</i>	14
4.2 Genre <i>Penicillium</i>	16
4.3 Genre <i>Fusarium</i>	16
5. Méthodes d'isolement et d'identification.....	19
5.1 Méthodes d'isolement.....	19
5.2 Identification des champignons toxinogènes	22
6. Toxinogénèse (paramètres physiologiques et physicochimiques)	25
6.1 Paramètres physiologiques.....	25
6.2 Paramètres physicochimiques.....	25
7. Méthodes d'analyse des mycotoxines	29
7.1 Procédures générales.....	29
7.2 Les méthodes basées sur la culture	30
7.3 Les méthodes conventionnelles	31
7.4 Les méthodes rapides pour la détermination des mycotoxines : L'analyse immunochimique.	32
7.5 Techniques émergentes.....	33
7.6 Les outils de la mycologie prédictive	33

8. Réglementation relative aux mycotoxines dans le monde et en Algérie.....	35
Chapitre II	41
1. Introduction	41
2. Etat de l'art sur la contamination dans le monde et dans le Maghreb.....	41
2.1 Cas du blé.....	41
2.2 Cas du maïs	46
2.3 Cas du riz	52
Chapitre III	55
1. Stratégies globales.....	55
1.1 Recommandations et bonnes pratiques de prévention	55
1.2 Méthodes de décontamination des aliments	56
2. Dans la filière céréales	60
3. Application de HACCP	62
Conclusion.....	66
Références bibliographiques	68

Introduction générale

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produites principalement par les *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* dans les plantes et les aliments provoquant des effets néfastes sur l'organisme humain et animal (Tantaoui-Elaraki et al., 2018 ; Kebede et al., 2020). La globalisation du commerce des denrées agricoles et le manque de l'harmonisation législative ont contribué significativement à susciter un grand intérêt à la problématique des mycotoxines dans la chaîne alimentaire (Cheli et al., 2013). Selon le rapport annuel du système d'alerte rapide pour la nourriture et l'alimentation animale (*Rapid Alert System For Food And Feed*, RASFF), les mycotoxines ont été le motif principal pour les notifications de rejet aux frontières de l'Union Européenne (Asemoloye et al., 2017).

La fréquence de la contamination des aliments par les mycotoxines a été estimée par l'organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) à 25% des récoltes mondiales bien que cette déclaration a été jugée récemment comme valeur qui sous-estime l'occurrence réelle placée entre 60 à 80% et expliquée par une combinaison de la sensibilité améliorée des méthodes analytiques et de l'impact du changement climatique (Eskola et al., 2019). Les conditions environnementales favorables pour la production des mycotoxines, les conditions du stockage inappropriées, le manque d'information chez l'agriculteur et le consommateur, les obstacles technologiques, et surtout la pauvreté ont contribué à la propagation élevée des mycotoxines dans les aliments des pays en voie de développement par rapport aux pays développés (Ismail et al, 2018).

Les céréales et leurs produits dérivés sont les aliments principaux pour la consommation humaine à travers le monde (Filazi et Sireli, 2013). Les céréales constituent l'un des substrats privilégiés des champignons producteurs de mycotoxines tout au long de la chaîne : au champ, à la récolte, au stockage, au transport, à la transformation industrielle ou au conditionnement (Forget-Richard et Oswald, 2012 ; Tantaoui-Elaraki et al., 2018 ; Munkvold et al., 2019 ; Cinar et Onbasi, 2019).

Comme le reste des pays africains, le Maghreb est énormément touché par le fléau de la contamination des céréales par les mycotoxines pour les raisons suivantes : Les niveaux de température et d'humidité relative sont suffisamment élevés pour favoriser un développement fongique rapide dans les denrées alimentaires, le régime alimentaire local est très riche en céréales et produits dérivés, le taux d'importation est grand avec des vérifications qui ne sont pas toujours strictes et les textes législatifs ne sont pas assez détaillés (Tantaoui-Elaraki et al., 2018). Afin de rectifier cette situation, il est important de rassembler toutes les données possibles sur les champignons toxigènes, les mycotoxines, leur contamination des céréales et dérivés et les méthodes possibles de détection afin de tracer un plan efficace et pratique de diagnostic et de prévention.

L'objectif de ce mémoire est de répondre aux questions suivantes : Comment peut-on détecter les champignons toxigènes et les mycotoxines dans les aliments ? Quelle est l'actualité

de la contamination des céréales par les mycotoxines ? Et quelles sont les solutions qui peuvent être adoptées ? Pour cela, nous avons rédigé cette revue bibliographique qui sera présentée de la manière suivante :

-Tout d'abord, nous évoquerons les généralités sur les mycotoxines et les champignons toxigènes, leur impact sur l'économie et la santé, les méthodes d'isolement et d'identification des champignons toxigènes, les paramètres physiologiques et physico-chimiques de la toxigenèse, les différentes méthodes de détection des mycotoxines ainsi que leur réglementation au monde ;

- nous allons ensuite mettre l'accent sur la contamination des céréales par les mycotoxines, avec énumération des principales mycotoxines retrouvées dans cette filière, la présentation de l'état actuel des connaissances et une comparaison des travaux effectués dans les cas du blé, du maïs et du riz et cela dans le monde globalement et au Maghreb particulièrement ;

-enfin, nous décrirons les stratégies de lutte proposées par la littérature en commençant par les stratégies globales puis spécifiques aux céréales et en clôturant par l'approche HACCP.

Chapitre I

Les mycotoxines et les champignons toxigènes

1. Généralités

Le terme mycotoxine vient du grec "*mycos*" qui signifie champignon et du latin "*toxicum*" qui signifie poison (Gauthier, 2016). Les mycotoxines sont des métabolites secondaires toxiques (Kebede et *al.*, 2020) non immunogènes (Benkerroum, 2020) de faible poids moléculaire synthétisées par divers moisissures (champignons microscopiques) appartenant notamment aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (Mahdjoubi et *al.*, 2020). Les mycotoxines les plus connues sont les aflatoxines (AFs), l'ochratoxine A (OTA) et les toxines de *Fusarium*, principalement la zéaralénone (ZEA), les fumonisines (FUM), la déoxynivalénol (DON), la nivalénol (NIV), la toxine T-2 (T-2) et la toxine HT-2 (HT-2) (Tantaoui-Elaraki et *al.*, 2018). Cependant, l'aflatoxine est la toxine la plus produite le genre *Aspergillus* qui était le champignon portant le plus de gènes responsables de la production des toxines fongiques (Eltariki et *al.*, 2018). Les mycotoxines sont chimiquement diverses et capables d'induire une grande variété de symptômes aigus et chroniques, allant du refus d'alimentation à la mort rapide ou au cancer (Munkvold et *al.*, 2019). Ces toxines se retrouvent à l'état de contaminants naturels de nombreuses denrées d'origine végétale, notamment les céréales (A.F.S.S.A., 2009). Actuellement, plus de 300 mycotoxines ont été identifiées dans le monde et au moins 200 espèces fongiques sont impliquées, notamment des genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (Tantaoui-Elaraki et *al.*, 2018). Les champignons peuvent se développer sur la plante au champ ou en cours de stockage (A.F.S.S.A., 2009). Le genre *Fusarium* est souvent classé comme champignon de champ, tandis que les genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont considérés comme des champignons de stockage, bien que ceux-ci puissent se développer au champ si les conditions environnementales sont favorables. Une détection précise et sensible des espèces mycotoxinogènes est nécessaire car même des espèces très proches peuvent produire une gamme différente de mycotoxines (Jedidi et *al.*, 2018).

Les mycotoxines ont trois origines biosynthétiques principales : les polyacétates, les terpènes et les acides aminés. Selon la voie de leur biosynthèse, les mycotoxines présentent des origines chimiques très diverses (Tableau 1). Il convient de remarquer que dans un groupe structural de toxines, la toxicité peut varier considérablement d'une toxine à une autre et que le danger n'est pas toujours lié à la toxine elle-même, mais peut aussi provenir de ses métabolites (Riba, 2008).

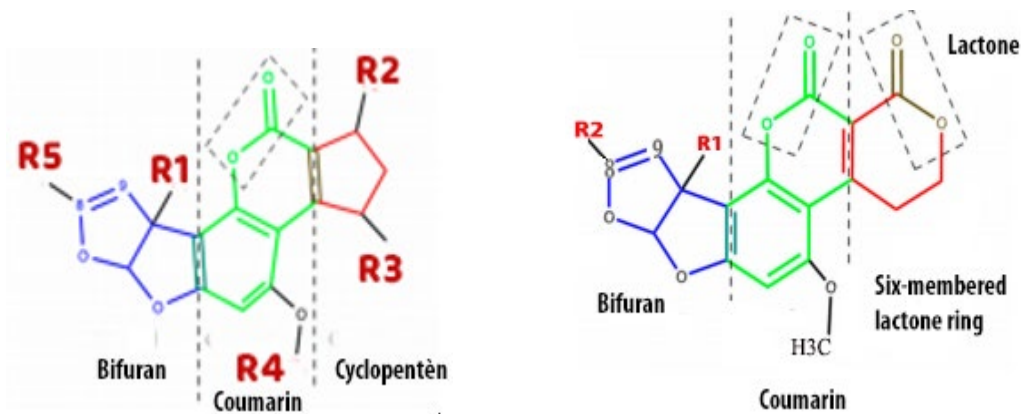
Tableau 1. Origine chimique des mycotoxines (Ueno et Ueno, 1978 cité par Riba, 2008).

Mycotoxines dérivées des acides aminés	Mycotoxines dérivées des polycétoacides	Mycotoxines dérivées des terpènes
Alcaloïdes de l'ergot.	Aflatoxines.	Diacétoxyscirpénol (DAS).
Acide cyclopiazonique (CPA).	Acide pénicillique.	Déoxynivalénol.
Acide aspergillique.	Citrinine.	Fusarénone.
Fumitremorgines.	Ochratoxines.	Roridines.
Gliotoxine.	Patuline.	Toxine T2.
Roquefortine.	Rubratoxines	Verrucarines, etc.
Slaframine.	Stérigmatocystine.	
Sporodesmine, etc.	Zéaralénone, etc.	

2. Les principales mycotoxines

2.1 Les aflatoxines (AF)

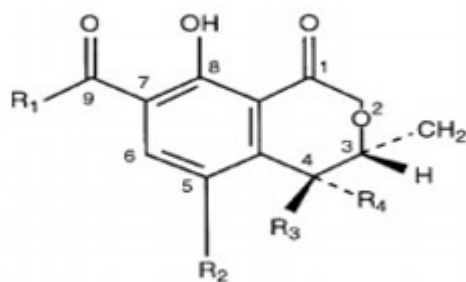
Les aflatoxines sont produites par des espèces appartenant au genre *Aspergillus* section *Flavi*. Dans cette section plus de 20 espèces ont été décrites dont la moitié produit les aflatoxines. Toutefois, les trois espèces aflatoxinogènes les plus connues dans la littérature sont *A. flavus*, *A. parasiticus* et *A. nomius*. Les AFs sont douées d'une grande toxicité et l'AFB₁ est considérée comme l'agent cancérigène naturel le plus puissant. Les aflatoxines (AFs) sont très souvent retrouvées dans une grande variété de produits agricoles, en particulier le maïs, le blé, le riz, les épices, fruits secs et noix des régions tropicales et subtropicales (Janic Hajnal et al., 2017, Ait Mimoune et al., 2018 ; Bouti et al., 2018). Structurellement, les aflatoxines sont des coumarines hautement oxygénées avec des structures qui ne diffèrent que très légèrement. Au moins 18 différents types d'AFs ont été chimiquement caractérisés, les six principales étant l'aflatoxine B₁, l'aflatoxine B₂, aflatoxine G₁, aflatoxine G₂, l'aflatoxine M₁ et l'aflatoxine M₂ (Figure 1). Les aflatoxines se répartissent en deux groupes principaux : les difurocoumarocyclopenténones constituées généralement de série d'aflatoxine B et ses dérivés (figure 1A), et difurocoumarolactones constituées de série d'aflatoxine G en tant que principaux représentants (figure 1B). Les AFs sont des molécules solubles dans les solvants polaires (Omara et al., 2020).



Aflatoxin	R1	R2	R3	R4	R5	C8-C9 bond	Aflatoxin	R1	R2	C8-C9 bond
B1	H	=O	H	CH3	H	Unsaturated	G1	H	H	Unsaturated
B2	H	=O	H	CH3	H	Saturated	G2	H	H	Saturated
M1	OH	=O	H	CH3	H	Unsaturated	(B) Difurocoumarolactone aflatoxines			
M2	OH	=O	H	CH3	H	Saturated				

(A) Difurocoumarocyclopentenone

Figure 1. Les différentes structures chimiques des aflatoxines dans les groupes Difurocoumarocyclopentenone (A) et Difurocoumarolactone (B) (Benkerroum, 2020).



Nom	R1	R2	R3	R4	R5
Ochratoxine A	Phénylalanyl	Cl	H	H	H
Ochratoxine B	Phénylalanyl	H	H	H	H
Ochratoxine C	Phénylalanyl, éthyl ester	Cl	H	H	H

Figure 2. Structure des différentes ochratoxines et leurs analogues (voir le tableau) (A.F.S.S.A., 2009).

2.2 Les ochratoxines (OT)

Les ochratoxines ont été considérées parmi les mycotoxines les plus importantes (Frisvad et al., 2019). L'ochratoxine A (OTA) est une mycotoxine naturelle produite principalement par le type fongique d'*Aspergillus* (*A. ochraceus*) et *Penicillium* (*P. verrucosum*) (Cabanès et Bragulat, 2018 ; Cinar et Onbaşı, 2019). Différents dérivés de l'OTA ont été identifiés, notamment les ochratoxines B et C qui sont respectivement l'analogue déchloré et l'ester éthylique de l'OTA (A.F.S.S.A., 2009). Les céréales sont considérées comme la principale source de l'exposition humaine à l'OTA (Cabanès et Bragulat, 2018).

La formule brute de l'ochratoxine A est $C_{20}H_{18}ClNO_6$. Elle est constituée d'une molécule de 3-méthyle-5-chloro-8-hydroxy-3,4 dihydro- isocoumarine liée par une liaison peptidique, au niveau de son groupement carboxyle en C7, au groupement amine de la L-β-phénylalanine (figure 2) (Riba, 2008).

2.3 Les toxines de *Fusarium*

Les toxines de *Fusarium* sont produites par les espèces du genre *Fusarium* notamment *Fusarium oxysporum*, *F. culmorum*, *F. roseum* et *F. graminearum*. Les fumonisines (FUM), la zéaralénone (ZEA), les trichothécènes, la déoxynivalénol (DON) et la nivalénol (NIV) sont les groupes de mycotoxines de *Fusarium* les plus courants (Tableau 2). La DON est signalée comme la mycotoxine la plus courante dans le monde (Cinar et Onbaşı, 2019). Cependant, d'autres mycotoxines deviennent un problème mondial très préoccupant en raison de leur forte incidence dans les aliments, y compris les toxines fusariennes émergentes, telles que la beauvéricine (BEA) et les enniatines (ENN) (Mahdjoubi et al., 2020) et la moniliformine (MON) (Orlando, 2016).

- **Les fumonisines (FUM)**

Les fumonisines sont des mycotoxines produites par une variété de champignons du genre *Fusarium* (Palacios et al., 2011) telles que *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* et également par *A. niger*. Aujourd'hui, 28 types de fumonisines ont été identifiés qui sont divisés en quatre groupes, les fumonisines A (A₁, A₂ et A₃), les fumonisines B (B₁, B₂ et B₃), les fumonisines C (C₄, C₃ et C₁) et les fumonisines P (P₁, P₂ et P₃), mais le groupe de fumonisines le plus important est le groupe B (Cinar et Onbaşı, 2019).

- **Zéaralénone (ZEA)**

La zéaralénone est produite principalement par *F. culmorum* et *F. graminearum*. La principale source de contamination par la ZEA est les aliments à base de céréales tels que le maïs, le sorgho, le blé, le riz, l'orge, l'avoine (Cinar et Onbaşı, 2019).

- **Les trichothécènes (TCT)**

Les trichothécènes sont des composés hautement toxiques produits par une grande variété de genres fongiques principalement par des espèces pathogènes appartenant au genre *Fusarium*. Ces mycotoxines sont des sesquiterpénoïdes, classés comme A ou type B selon l'absence ou la

présence d'un céto groupe à la position C-8 de l'anneau trichothécène (Gil-Serna et *al.*, 2019). D'après Ueno (1977), Il existe quatre groupes de trichothécènes (A, B, C, et D.), dont les groupes A et B sont les plus fréquemment retrouvés dans les denrées alimentaires :

Groupe A : Constitué par les trichothécènes dépourvus de fonction cétone en C8 ; la toxine T- 2, la toxine HT-2 et le diacétoxyscirpénol (DAS) en font partie

Groupe B : Constitué par les trichothécènes possédant une fonction cétone en C8 ; la nivalénol, la déoxynivalénol (DON) et la fusarénone-X en font partie (A.F.S.S.A., 2009).

La déoxynivalénol (DON) et la nivalénol (NIV) sont les trichothécènes B les plus toxiques pour les animaux et les humains et se trouvent couramment dans les céréales comme le maïs, l'avoine, l'orge et blé (Gil-Serna et *al.*, 2019).

- **Les mycotoxines émergentes du *Fusarium***

Les *Fusarium* produisent d'autres toxines comme la beauvéricine, les enniatines et la moniliformine, moins bien décrites et appelées mycotoxines émergentes (Pinton, 2019), les formes de mycotoxines les moins connues ou les plus récentes (Alltech, 2018). Les données d'occurrence de ces toxines sont encore limitées. Cependant, des résultats préliminaires suggèrent qu'elles ont une prévalence élevée et, de ce fait, activement surveillées par l'EFSA (Orlando, 2016) (Tableau 3). *In vitro*, la beauvéricine et l'enniatine sont cytotoxiques, induisent du stress oxydant et l'apoptose et *in vivo*, il existe peu de données d'exposition chronique (Pinton, 2019).

Les enniatines sont susceptibles d'être produites par plusieurs espèces de *Fusarium* : *F. avenaceum*, *tricinctum*, *poae* et *sambucinum*. Ces *Fusarium* sont significativement présents dans le territoire européen. Dans son avis publié en août 2014, l'EFSA mentionne que ces toxines sont détectées dans 76 % des grains en Europe, aux USA (Etats-Unis) et en Afrique du Sud, avec une présence plus importante dans l'orge et le seigle. Les teneurs mesurées peuvent dépasser les 1 000 µg/kg. L'observatoire conduit par ARVALIS confirme la fréquente présence de ces toxines, à des niveaux de contamination déjà observés dans la bibliographie, dépassant parfois les 1 000 µg/kg.

La beauvéricine est susceptible d'être produite par plusieurs espèces de *Fusarium* : *F. avenaceum*, *tricinctum*, *poae*, *sporotrichoides*, *sambucinum* et *subglutinans*, dont certaines sont significativement présentes sur les cultures françaises. Dans son avis publié en août 2014, l'EFSA mentionne que cette toxine est détectée en Europe et aux USA, avec une présence plus importante dans le maïs, plus particulièrement le gluten de maïs. Elle est retrouvée dans 54 % des grains, et les teneurs mesurées peuvent dépasser les 1 000 µg/ kg. L'observatoire ARVALIS confirme la fréquente présence de beauvéricine en France, essentiellement sur le maïs.

En effet, toutes les molécules ne présentent pas la même dangerosité, et tous les êtres vivants ne présentent pas la même sensibilité pour une toxine donnée (Orlando, 2016).

Tableau 2. Types et structures chimiques des toxines de *Fusarium* (A.F.S.S.A., 2009).

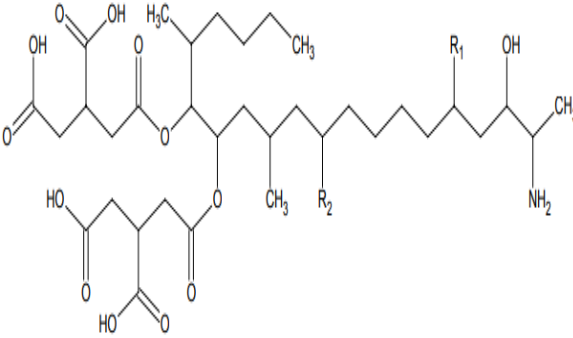
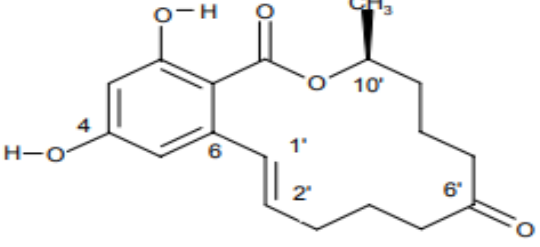
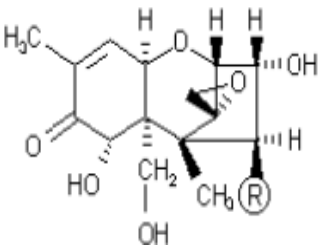
Mycotoxines	Structure chimique	Formule moléculaire	Poids moléculaire (Da)
Fumonisines		FB ₁ (C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₅) FB ₂ : (C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₄) FB ₃ (C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₄) FB ₄ (C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₃)	689,8 à 721,8
Zéaralénone		(C ₁₈ H ₂₂ O ₅)	318
Trichothécènes	 <p style="margin-left: 20px;">DON: R = H NIV: R = OH</p>	(C ₁₅ H ₂₀ O ₆) (C ₁₅ H ₂₀ O ₇)	154697

Tableau 3. Mycotoxines « émergentes » susceptibles d'être présentes sur les céréales et champignons producteurs (Orlando, 2016).

Famille de mycotoxines	Pathogène producteur
Beauvéricine	<i>Fusarium spp.</i>
Enniatines (ENNA, ENNA₁, ENNB, ENNB₁)	

- **Les mycotoxines modifiées**

Elles peuvent se former lorsque la structure parentale (structure native : Structure de base de la mycotoxine formée par le champignon) (Rigal, 2018) est modifiée biologiquement ou chimiquement de la structure chimique de la mycotoxine native par un organisme animal, végétal ou par une moisissure. Un exemple est la production de formes modifiées de DON, telles que le 3-acétyl-désoxynivalénol et le 15-acétyl-désoxynivalénol. Le processus de modification des mycotoxines peut rendre ces composés plus ou moins biodisponibles, entraînant des composés plus ou moins toxiques (Alltech, 2018).

3. Impact sur la santé et sur l'économie

Les produits contaminés par les mycotoxines peuvent entraîner des pertes économiques majeures et affecter négativement la santé animale et humaine (Filazi et Sireli, 2013). L'effet des mycotoxines sur l'économie nationale se manifeste par : Des pertes dans les produits agricoles ; diminution de la valeur économique du produit ; le coût de l'entretien médical des personnes et animaux intoxiqués ; le coût des analyses de détection et des stratégies de contrôle (Cinar et Onbasi, 2019).

Les maladies causées par l'ingestion des mycotoxines sont appelées les mycotoxicoses (Kehinde et *al.*, 2014). Leur apparition est influencée par certaines conditions comme l'âge, l'alimentation, le sexe, l'espèce et l'exposition à d'autres toxines (Sheikh-Imranudin et *al.*, 2014). Elles peuvent être transmises au corps humain par contact physique ou par inhalation directe des spores, et les toxines tendent à s'accumuler dans les organes ou les tissus durant leur métabolisme. Les mycotoxicoses ont les caractéristiques suivantes : Non-transmissibilité ; épidémie saisonnière ; perturbation associée avec une denrée alimentaire spécifique ; les médicaments ont peu ou pas d'effet (Asemoloye et *al.*, 2017).

Non seulement il n'existe aucun traitement pour réduire l'impact des mycotoxines, leur effet n'apparaît pas instantanément, mais il s'agit d'un effet cumulatif qui apparaît après 10 à 20 ans de consommation de la nourriture contaminée. De plus, les mycotoxines ne stimulent pas le système immunitaire (Eltariki et *al.*, 2018). Les effets des mycotoxines peuvent être aigus lorsqu'il s'agit d'une exposition modérée voire élevée, ce qui peut arriver souvent en Afrique et sud-est de l'Asie, ou chronique si l'exposition est faible voire modérée (A.F.S.S.A., 2009 ; Shabani-Gholami et *al.*, 2017).

Toute la population est concernée par ce danger, peu importe l'âge et le sexe, malgré que la fréquence soit plus importante chez les enfants et les femmes enceintes (Achaglinkame et *al.*, 2018). Selon le niveau d'exposition, les mycotoxines peuvent contribuer à divers symptômes et anomalies. Les fœtus et les nourrissons sont exposés aux toxines par leurs mamans avec des taux faibles comparés aux taux après sevrage (Ismail et *al.*, 2018).

L'évaluation des risques est un processus à 4 étapes, qui détermine les effets inverses possibles d'un composant chimique comme les mycotoxines sur un organisme. L'évaluation de l'exposition est l'un des éléments principaux de l'évaluation des risques et prend en considération la prévalence et la concentration de la mycotoxine dans le régime, les modèles de consommation ainsi que la valeur d'apport corrélée aux aliments contenant les mycotoxines. Les valeurs estimées à partir de l'évaluation de l'exposition diététique peuvent être déterminées pour réduire les risques pour les humains : L'apport quotidien tolérable (TDI) ou l'apport quotidien maximal tolérable (PMTDI) ainsi que l'apport hebdomadaire (TWI) ou l'apport hebdomadaire tolérable provisoire (PTWI) sont utilisés pour les mycotoxines non génotoxiques. TDI/TWI font référence au taux qui peut être consommé quotidiennement/chaque semaine pendant une vie sans un risque sanitaire considérable. Cependant, dans le cas des mycotoxines carcinogènes génotoxiques comme AFB₁ la valeur à estimer est la marge d'exposition MOE obtenue en divisant la dose qui cause un impact défini (dose de référence, BMD) chez les animaux, par une ingestion diététique approximative de l'AFB₁ chez les Hommes. Un MOE <10000 peut causer un risque élevé à la santé publique (Heshmati et al., 2017).

En ce qui concerne les animaux, les conséquences directes de la consommation de fourrage contaminé par les mycotoxines sont : la réduction de la prise alimentaire, le refus de s'alimenter, un métabolisme faible, risque d'un cancer du foie (cela a été remarqué même lors d'injection d'une petite quantité), diminution de la prise du poids, augmentation de l'incidence des maladies (à cause de l'immunosuppression), la réduction des capacités de reproduction, de la lactation et de la ponte d'œufs en plus des pertes économiques (Sheikh-Imranudin et al., 2014 ; Shabani-Gholami et al., 2017). Les femelles vont produire du lait infecté qui sera consommé non seulement par leurs petits mais aussi par l'Homme ce qui entraîne des dépenses importantes hygiéniques et pharmaceutiques pour la société (Yitbarek et Tamir, 2013).

3.1 Cas de la contamination par les aflatoxines :

A.flavus est l'espèce fongique la plus virulente (Sheikh-Imranudin et al., 2014) . 8,19 cas d'aflatoxicoses sont signalées par 100 000 habitants en Afrique par an (Omara et al., 2020). La pire épidémie d'aflatoxicose a eu lieu à Kenya en 2004, où 317 intoxications et 125 décès ont été reportés (Mohammed et al., 2016). Il y a eu beaucoup d'autres épidémies à l'ouest de l'Inde et en Malaisie (Achaglinkame et al., 2018). Les AFs sont cancérigènes, hépatotoxiques, tératogènes et peuvent causer des lésions rénales et des saignements (Cinar et Onbasi, 2019).

L'aflatoxicose aigue peut être caractérisée par des nausées, la diarrhée, des douleurs abdominales, la fièvre, l'anorexie, la somnolence, une atteinte hépatique aigue, un coma et finalement la mort. Dans le cas d'aflatoxicose chronique, qui est commune, un dysfonctionnement métabolique et une croissance lente sont observés. Elle peut être aussi caractérisée par un cancer du foie, une jaunisse, une hépatomégalie, une inflammation de la vésicule biliaire, une cirrhose et une stéatose hépatique. Le cancer du foie est probablement associé avec cette maladie dans le centre de l'Afrique et des parties du sud-est de l'Asie.

Après leur entrée dans les hépatocytes, les AFs sont métabolisées soit par oxydation à la forme active AFBO, qui a la capacité à se lier à l'ADN induisant des mutations surtout des mutations ponctuelles qui résultent aux troubles de la production d'ADN et finalement d'une protéine donnée, de plus il peut être hydrolysé à un dihydrodiol qui peut être lié aux protéines et causer la cytotoxicité (Figure 3). Il a été démontré que les AFs ont des propriétés immunosuppressives, qui peuvent manifester comme une inhibition de l'activité des lymphocytes T et B, de la production des anticorps, et une altération des fonctions effectrices des macrophages et des neutrophiles, ce qui est lié probablement à leur effet inhibiteur de la synthèse protéique (Shabani-Gholami et *al.*, 2017).

Les souris et les cochons d'Inde sont résistants à l'aflatoxicose, tandis que les canards, les singes, les lapins, les truites, et les rats sont sensibles. La destinée de l'exposition des Hommes et des animaux aux AFs dépend du système de détoxification du foie, la structure du génome, l'âge et les facteurs nutritionnels (Shabani-Gholami et *al.*, 2017). Lombard a aussi observé que les enfants affectés par ces toxines étaient petits et maigres par rapport à leur âge. En plus du risque du cancer qui résulte à la mort selon le type, la période et la quantité de l'exposition (Achaglinkame et *al.*, 2018), les auteurs ont rapporté que plus de 80% des AFs sont absorbées au tractus gastro-intestinal (*via* le transport passif), alors que l'absorption d'autres mycotoxines majeures peut varier de 1% à 60% (*via* un transport passif par simple diffusion pour l'OTA ou *via* un transport paracellulaire pour la DON) (Smith et *al.*, 2016).

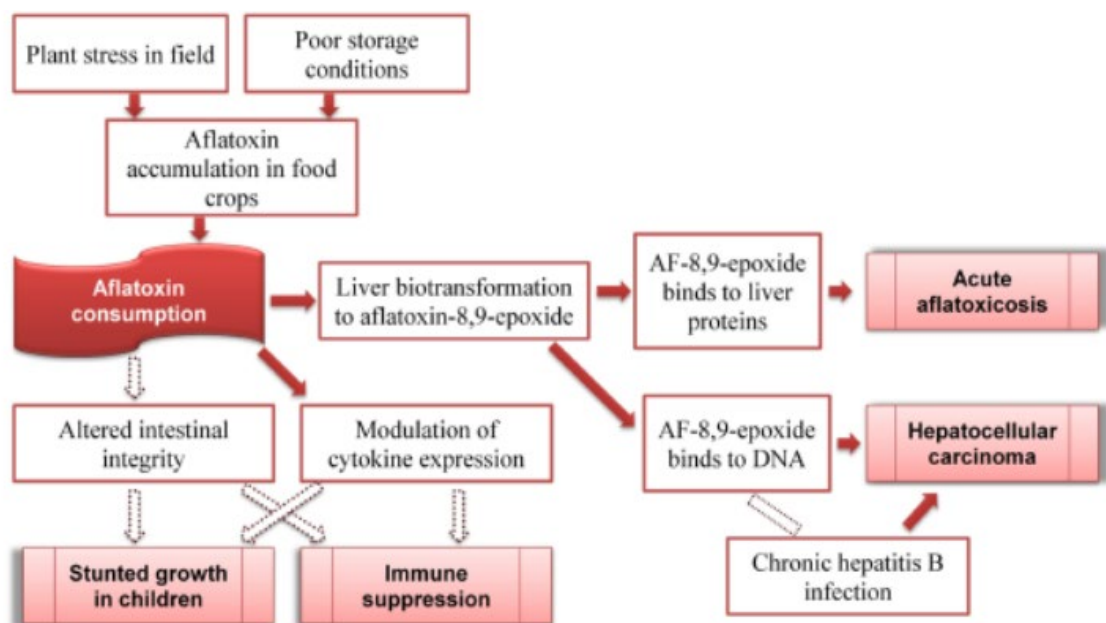


Figure 3. Voies d'atteinte des AFs à l'organisme humain (Yitbarek et Tamir, 2013).

3.2 Cas de la contamination par OTA :

Pour la première fois en 1970, la présence d'OTA a été détectée dans le sang humain dans les Balkans. D'énormes pertes économiques se produisent en raison de la contamination des fourrages et des denrées alimentaires par l'OTA, en particulier la production animale. L'ochratoxine A est connue pour sa néphrotoxicité (une dysfonction rénale) surtout chez les animaux de laboratoire et d'élevage (Cinar et Onbaşı, 2019). Elle serait l'un des facteurs potentiels à l'origine de troubles rénaux chez l'homme connus sous le nom de Néphropathie Endémique des Balkans (NEB). Elle s'avère également immunotoxique, tératogène, embryotoxique, hépatotoxique et neurotoxique. Son pouvoir cancérigène est établi chez l'animal, mais les preuves sont encore insuffisantes chez l'Homme (A.F.S.S.A., 2009). Les symptômes observés sont les nausées, la perte d'appétit et les vomissements (Cinar et Onbasi, 2019).

3.3 Cas de la contamination par les mycotoxines de *Fusarium* :

La maladie causée par *Fusarium* sur les plantes est appelée fusariose. Des éclosions spontanées de mycotoxicose à *Fusarium* ont été signalées en Europe, en Asie, en Afrique, en Nouvelle-Zélande et en Amérique du Sud. Aux Etats-Unis, ce genre cause des pertes de 2900 millions de dollar chaque année pour le blé et l'orge (Chilaka et *al.*, 2017).

Bien que la découverte de la structure de la fumonisine B₁ (FB₁) date de 1988 par Gelderblom et *al.*, les effets de cette famille de mycotoxines sont connus depuis longtemps dans plusieurs espèces animales, en particulier chez les équidés où elles se manifestent par une hépatotoxicité et une nécrose cérébrale (A.F.S.S.A., 2009). Des études récentes ont rapporté que FB₁ provoque une encéphalomalacie et une augmentation de la prévalence du cancer de l'œsophage et du foie chez l'homme. De plus, cette mycotoxine s'est avérée avoir des effets toxiques contre plusieurs organes (systèmes nerveux et cardiovasculaire, foie, poumon, rein) chez les animaux (Cinar et Onbaşı, 2019).

Plusieurs études *in vivo* ont montré que la ZEA perturbe l'équilibre hormonal en raison de sa similitude avec les œstrogènes naturels. La mycotoxine a une affinité élevée pour les récepteurs des œstrogènes, provoquant des troubles de la reproduction et de la fertilité chez les Mammifères. De plus, il est connu que l'exposition progressive au composé modulateur endocrinien a été liée à la cancérogenèse chez l'homme. Selon le rapport de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) en 2014, la biodisponibilité de la toxine peut atteindre 80% chez l'Homme et les animaux tels que les rats, les lapins et les porcs. De plus, des travaux récents rapportent que la ZEA est métabolisée dans le foie et a montré un effet hépatotoxique, immunotoxique, tératogène, cancérigène et néphrotoxique lors des tests sur les animaux (Cinar et Onbaşı, 2019).

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a rapporté que les trichothécènes présentent des intoxications mortelles et chroniques sur l'Homme et le bétail présentant des symptômes comme une nécrose cutanée, hémorragie, anémie, granulocytopenie, lésions épithéliales buccales, lésions hématopoïétiques, hypotension et coagulopathie et que la DON présente également des effets tératogènes, neurotoxigènes et immunosuppresseurs. La DON et la NIV, de la même manière que d'autres trichothécènes, montrent un effet inhibiteur sur le métabolisme cellulaire comme la

synthèse des protéines, de l'ADN et de l'ARN. De plus, ces mycotoxines affectent la division cellulaire et les fonctions mitochondriales. Les deux mycotoxines présentent des symptômes majeurs tels qu'un inconfort abdominal, une diarrhée, des vomissements, une inflammation de la gorge, une perte de poids et une anorexie (Cinar et Onbaşı, 2019). Plusieurs personnes sont mortes en Russie pendant la 2ème guerre mondiale à cause d'une leucopénie toxique alimentaire (ATA), une mycotoxicose causée par la toxine T-2 (Kehinde et *al.*, 2014).

Des rapports existants sur des études métaboliques *in vitro* et *in vivo* des mycotoxines modifiées prouvent que ces toxines peuvent être hydrolysées en toxines libres dans le tractus gastro-intestinal, indiquant ainsi une pertinence toxique potentielle sur l'espèce hôte (Chilaka et *al.*, 2017).

Enfin, la cooccurrence naturelle des mycotoxines dans les céréales est bien connue, et cela peut être expliqué par 3 raisons au moins : Les denrées alimentaires peuvent être contaminées par plusieurs champignons simultanément ou en succession rapide, la plupart des champignons peuvent produire plusieurs types de mycotoxines, l'alimentation animale est constituée de plusieurs sources des céréales. Les effets de toxicité combinés sont très difficiles à prédire. En plus d'être influencés par le type de mélanges de mycotoxines et leurs concentrations, les effets de toxicité combinés dépendent de la conception du modèle expérimental. En général, la plupart des mélanges de mycotoxines conduisent à des effets additifs ou synergiques, mettant en évidence une menace importante pour la santé humaine et animale. De plus, la plupart des études ont été réalisées sur moins de trois jours, à des concentrations supérieures aux limites légales. Il y a donc un manque de données sur l'exposition chronique à des concentrations de mycotoxines sous-toxiques, plus proches aux vraies habitudes de consommation des denrées alimentaires et de l'alimentation animale (Smith et *al.*, 2016). Les effets combinés des mycotoxines ont été rapportées dans plusieurs études. Cependant, l'évaluation réelle des risques pour la santé se limite à leurs effets uniques, puisqu'il n'y a pas suffisamment d'informations disponibles sur la nature des effets observés ou les puissances relatives de chaque mycotoxine dans le mélange (Mahdjoubi et *al.*, 2020).

4. Les principaux genres fongiques toxigènes

Les trois genres producteurs de mycotoxines sont *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Ce sont les contaminants les plus fréquents des aliments. On les retrouve principalement dans les céréales, mais aussi dans de nombreux autres produits végétaux et d'origine animale (Tabuc, 2007).

4.1 Genre *Aspergillus*

Parmi les mycotoxines produites par ce genre fongique, seules les aflatoxines, les ochratoxines et la patuline ont une incidence économique et sanitaire.

- *Aspergillus* section *Flavi*

Parmi les différentes espèces d'*Aspergillus* de la section *Flavi*, les producteurs les plus prédominants des mycotoxines sont montrés dans le tableau 4.

Les espèces d'*Aspergillus Flavi* sont caractérisés par la présence des têtes conidiennes de couleur jaune-vert à brun dont certaines produisent des sclérotés bruns foncé ou parfois jaunes (figure 4).

- *Aspergillus* section *Nigri* (The black aspergilla)

Aspergillus section *Nigri* (les *Aspergillus noirs*) sont considérés comme des champignons ubiquitaires responsables de la dégradation des aliments et de la biodégradation d'autres matériaux. Parmi les 27 espèces qui ont été acceptées dans la Section d'*Aspergillus Nigri*, seules quelques espèces ont été confirmées comme étant productrices de l'OTA (*A. carbonarius*, *A. lacticoffeatus*, *A. niger*, *A. sclerotiumniger* et *A. welwitschiae* ...) et sont donc des contaminants naturels des aliments. Le tableau 5 montre les espèces les plus courantes d'*Aspergillus* section *Nigri*.

Le principal caractère morphologique pour les *Aspergillus noirs*, est la couleur de la tête conidienne (uni/bisériée), qui est noire ou une nuance de noir, formant donc des colonies noires ou brunes foncé (figure 5), certaines espèces peuvent former une colonie brune pourpre, une brune rougeâtre, une verdâtre foncé, colonies jaunes ou oranges en fonction de différents facteurs (le milieu / l'âge de culture ...) (Cabanès et Bragulat, 2018).

Tableau 4. Les principales espèces d'*Aspergillus Flavi* producteurs des mycotoxines (Bouti et *al.*, 2019).

Espèces	Toxigénicité	Couleur de colonie
<i>Aspergillus flavus</i>	AFB ₁ , AFB ₂ et/ou CPA	Vert jaunâtre
<i>Aspergillus parasiticus</i>	AFB et AFG	Vert foncé
<i>Aspergillus alliaceus</i>	OTA	Blanche
<i>A. tamaritii</i>	CPA	Marron foncé

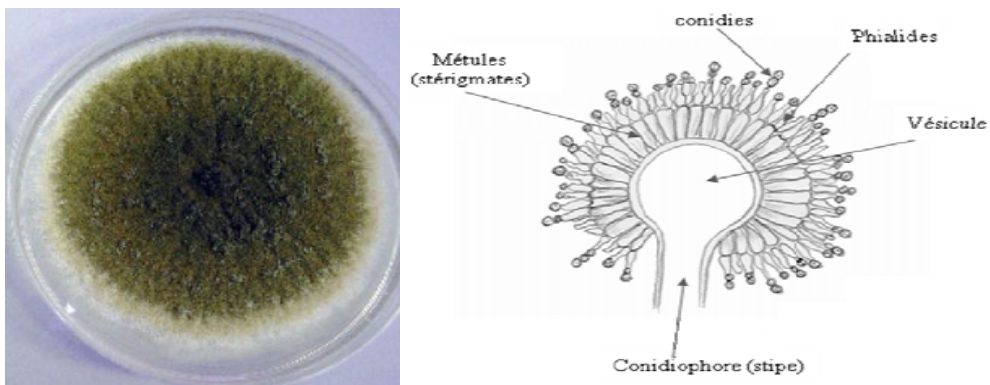


Figure 4. Aspects morphologiques d'*Aspergillus Flavi* (Riba, 2008).

Tableau 5. Les espèces les plus courantes dans la section d'*Aspergillus Nigri* (Cabanes et Bragulat, 2018).

Espèces	Tête conidiale	Production d'OTA
<i>A. aculeatus</i>	Unisériée	-
<i>A. niger</i>	Bisériée	+/-
<i>A. carbonarius</i>	Bisériée	+/-
<i>A. heteromorphus</i>	Bisériée	-
<i>A. homomorphus</i>	Uni/Bisériée	-

4.2 Genre *Penicillium*

Le genre *Penicillium* comprend plus de 400 espèces décrites (Visagie *et al.*, 2014). Ces espèces produisent un certain nombre de mycotoxines telles que la patuline, la citrinine, l'acide pénicillique, la roquefortine C (Lahouar, 2016) et l'ochratoxine A (Gauthier, 2016) (tableau 6). Les *Penicillium* peuvent former des colonies floconneuses, funiculaires, granuleuses ou, veloutées de couleur vert- de- gris.

Au point de vue morphologique les *Penicillium* se distinguent par leur organisation en pinneau. Le thalle, formé de filaments mycéliens septés et hyalins, porte des conidiophores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés qui se terminent par un pénicille. Les conidiophores peuvent être isolés, groupés en faisceaux lâches ou agrégés en corémies bien individualisés (Figure 6) (Tabuc, 2007).

4.3 Genre *Fusarium*

Le genre *Fusarium* a été décrit et nommé pour la première fois par Link (1809), basé sur la forme classique de ses fusiformes macroconidies, puis il a été sanctionné par Fries en 1821 (Refai *et al.*, 2015). En 1935, Wollenweber et Reinking ont publié une monographie dans laquelle ils décrivent 65 espèces et 78 variétés nommées de *Fusarium* (Christensen et Tuite, 2010). Les espèces du genre *Fusarium* (*Fusarium sp.*) sont communément associées aux végétaux supérieurs et font partis des champignons les plus rencontrés dans les écosystèmes terrestres (Dossa *et al.*, 2019). Le genre *Fusarium* comprend des espèces capables de produire de nombreuses mycotoxines : les trichothécènes, la zéaralénone et les fumonisines (tableau 7).

Les *Fusarium* forment des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleur variable (blanche, crème, jaune, rose, rouge, violette ou lilas) selon les espèces (Tabuc, 2007). Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées. Les conidiophores, parfois très ramifiés, forment sur le thalle des coussinets (sporodochies) et portent des masses de spores (figure 7) (Lahouar, 2016).



a.

(Cabanès et Bragulat, 2018)



b.

b.1



b.2

(Riba, 2008)

Figure 5. Aspects macroscopique (a) et microscopique (b) d'*Aspergillus* section *Nigri* ; b.1 : tête unisériée : possédant une seule couche de phialides sur le vésicule b.2 : tête bisériée : possédant une couche de métules et une deuxième couche de phialides.

Tableau 6. Les principales espèces de *Penicillium* et leur toxigénicité (Gauthier, 2016).

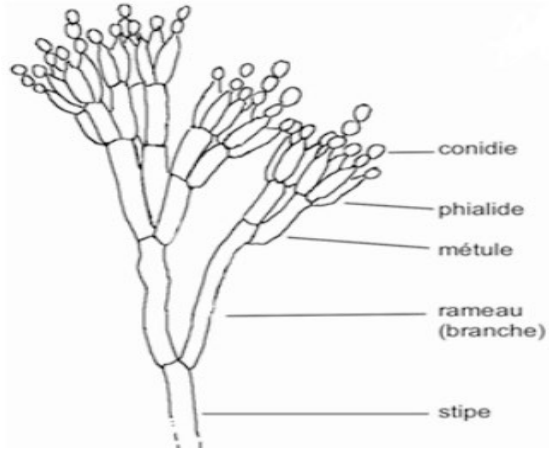
Espèces	Toxines produites
<i>Penicillium verrucosum</i>	Ochratoxine A, Citrinine
<i>Penicillium nordicum</i>	Ochratoxine A
<i>Penicillium roqueforti</i>	Acide pénicillique, Roquefortine C
<i>Penicillium expansum</i>	Citrinine, Patuline, Roquefortine C
<i>Penicillium viridicatum</i>	Ochratoxine A, Citrinine
<i>Penicillium citrinum</i>	Citrinine

Tableau 7. Quelques espèces de *Fusarium* producteurs des mycotoxines (Tabuc, 2007).

Espèces	Mycotoxines produites
<i>Fusarium culmorum</i>	culmorine, fusarine C, trichotécènes type B, zéaralénone
<i>Fusarium graminearum</i>	trichotécènes type B, zéaralénone
<i>Fusarium oxysporum</i>	acide fusarique, moniliformine, oxysporine
<i>Fusarium verticillioides</i>	fumonisines, fusarine C, gibberelines, moniliformine, naftoquinone



([www. Shutterstock .com](http://www.Shutterstock.com))



(www.univ-brest.fr)

Figure 6. Aspects morphologiques du genre *Penicillium*.



a.

(Pitt, 2014)



b.

(www.sciencedirect.com)



Figure 7. Aspects macroscopiques (a) et microscopiques (b) du genre *Fusarium* (b) : macro- et microconidies du genre *Fusarium*.

5. Méthodes d'isolement et d'identification

5.1 Méthodes d'isolement

- **Méthode directe**

Les particules alimentaires (graines des céréales et autres graines) sont placées directement sur milieu d'agar solidifié. Généralement, la surface de ces graines doit être préalablement désinfectée pour enlever la poussière et d'autres sources possibles de contamination et récupérer que les champignons réellement présents dans l'aliment. Le taux de contamination est exprimé par le rapport des graines infectées sur le nombre total (Pitt et Hocking, 2009).

***Désinfection de la surface** : Les particules sont immergées dans une solution de chlore actif à 0,4% pendant 2 min avec agitation. L'eau de Javel peut être utilisée après dilution appropriée. La solution doit être changée à chaque fois car le chlore est dénaturé par la matière organique (Pitt et Hocking, 2009).

***Rinçage** : Après la désinfection, les graines sont rincées par de l'eau stérile pendant 1 min pour enlever les traces de chlore.

- **Méthode par dilution**

Il s'agit de la méthode la plus appropriée pour les échantillons liquides et en poudre.

***Préparation de l'échantillon** : Par blender pendant 60 secondes ou broyage pendant 2 min. Les échantillons comme les graines, les noix, les légumes secs doivent d'abord être trempés pendant 30 à 60 min.

***La solution de dilution** : Peut être une solution saline, un tampon de phosphate, de l'eau distillée ou une solution aqueuse de peptone à 0,1% (cette dernière peut même être utilisée pour les levures, contrairement aux précédentes). Un agent tensioactif comme le Tween 80 peut être ajouté (Pitt et Hocking, 2009).

***Dilution** : La solution mère est homogénéisée par agitation pendant 15 min. Des dilutions décimales (10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} , ...) sont réalisées à partir de la solution mère. Puis, cent microlitres de chaque dilution sontensemencés sur la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture et qui sont par la suite incubées (Riba, 2008 ; Pitt et Hocking, 2009).

- **Obtention d'une culture pure**

C'est l'isolement au sens strict. Pendant que la technique des stries est employée pour les bactéries et les levures, elle est non recommandée pour les moisissures. Une purification est effectuée par piqûre centrale des spores ou d'un hyphes placés ensuite dans un milieu de culture frais (Pitt et Hocking, 2009).

- **Le choix de milieu de culture**

Dépend des objectifs de l'étude, la nature de l'échantillon (aliment sec, aliment avec a_w importante, teneur en sucres et en sels), les microorganismes d'intérêt (moisissures, levures ou les deux), et la présence ou l'absence des conservateurs. Enfin, il existe des milieux de culture spécifiques d'un genre ou d'une espèce fongique (Pitt et Hocking, 2009). Il est possible d'ajuster le pH du milieu à environ 5 par ajout d'un acide (HCL, acide acétique...), ainsi que d'assurer l'obtention de cultures pures ou sélectives en additionnant un antibiotique (dichlorane, streptomycine) (Mohamed et *al.*, 2016).

D'après Pitt & Hocking (2009), le **DRBC** ou le **DG18%**, sont les deux milieux de cultures les plus utilisés pour l'isolement des moisissures des genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* à partir des céréales.

Pour les *Fusarium*, certains auteurs préconisent l'emploi de l'un des trois milieux : PDA, DCPA ou SNA. La composition des différents milieux sera détaillé ci-dessous.

***Milieu PDA (Potato dextrose agar)** : Très utilisé à cause de sa préparation simple, il est recommandé pour l'isolement des moisissures thermorésistantes dans les produits pasteurisés (Pitt et Hocking, 2009).

Pomme de terre : 200 g ; Agar : 15 g ; Glucose : 20 g ; Eau distillée : 1 l (Riba, 2008).

***Milieu DRBC (Dichloran Rose Bengale Chloramphenicol)** : Ce milieu est recommandé pour les moisissures et les levures. Il est particulièrement utilisé pour l'isolement à partir des aliments frais à a_w importante. Ce milieu contient le rose Bengale (25 mg/kg) et le dichloran (2 mg/kg), qui limitent le développement des colonies sans trop affecter la germination des spores. Les colonies compactes permettent le dénombrement des boîtes encombrées avec plus de précision. Cette combinaison des inhibiteurs limite aussi efficacement la croissance de la plupart des champignons Mucoracées communs comme *Rhizopus* et *Mucor*, bien qu'elle ne contrôle pas complètement quelques genres gênants comme *Trichoderma*. En utilisation courante, il est recommandé d'incuber les boîtes à DRBC loin de la lumière à 25°C (Pitt et Hocking, 2009).

Peptone : 5 g ; Dextrose : 10 g KH_2PO_2 : 1 g ; $\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$: 0,5 g ; Dichlorane (solution alcoolique à 0,2%) : 0,002 g ; Agar : 15 g Chloramphénicol : 0,1 g ; Rose Bengal (solution aqueuse à 5%) : 0,025 g (Pitt et Hocking, 2009 ; El Dawri et *al.*, 2019).

***Milieu AFPA (Aspergillus flavus and parasiticus agar)** : Spécifique à la détection des champignons producteurs d'aflatoxines dans les denrées alimentaires.

Peptone bactériologique : 10 g ; Extrait de levure : 20 g ; Citrate d'ammonium ferrique : 0,5 g ; Agar bactériologique : 15 g ; Dichlorane : 2 mg (0,2% dans 1ml d'éthanol) ; Eau distillée : 1 l (Pitt et Hocking, 2009 ; Rasheed et *al.*, 2019).

***Milieu PNBC (pentachloronitrobenzene medium)** : Décrit par Nash et Snyder, c'est un milieu de culture sans sucre. Supplémenté avec des antibiotiques et des fongicides, il est hautement inhibiteur pour la plupart des microorganismes sauf *Fusarium*.

Peptone : 15 g ; KH₂PO₂ : 1 g ; MgSO₄, 7H₂O : 0,5 g ; PCNB : 750 mg ; Agar : 20 g ; Eau distillé : 1 l (Leslie et Summerell, 2006).

***Milieu DCPA (Dichloran Chloramphenicol Peptone Agar adapté)** : C'est une variété du milieu de Nash et Snyder, où le PNBC est substitué par le dichloran, et les antibiotiques par le chloramphénicol. Lorsque *Fusarium* est dominant, ce milieu est efficace pour l'isolement à partir des graines, des fourrages et du sol. Cependant, cette efficacité diminue dans le cas des populations mixtes (Pitt et Hocking, 2009).

***Milieu CLA (Carnation Leaf Agar)** : Utilisé pour la culture des *Fusarium*. Des feuilles d'œillet fraîches, dépourvues des résidus de fongicides ou d'insecticides, séchées et stérilisées sont placées dans des boîtes Pétri avec de l'agar stérile à 2% (une feuille par 2 ml de milieu) (Leslie et Summerell, 2006).

***Milieu DG18 (Dichloran Glycerol Agar 18%)** : Recommandé pour l'énumération, l'isolement et la détection des champignons dans les aliments secs en particulier les céréales stockées, les noix et les graines destinées à la moulure. Ce milieu est inhibiteur pour les champignons Mucoracées et les bactéries (Pitt et Hocking, 2009).

***Milieu CYA (Czapeck Yeast Extract Agar)**:

Saccharose : 30 g ; Extrait de levure : 5 g ; Czapek concentré : 10 ml ; KH₂PO₂ : 1 g ; Agar : 15 g ; Eau distillée : 1 l.

***Milieu CZ (Czapek agar)** :

Saccharose : 30 g ; NaNO₃ : 3 g ; KH₂PO₂ : 1 g ; KCl : 0,5 g ; MgSO₄, 7H₂O : 0,5 g ; FeSO₄, 7H₂O : 0,01 g ; Agar : 15 g ; Eau distillée : 1 l (Pitt et Hocking, 2009).

***Milieu MEA (Malt Extract Agar)** : C'est l'un des milieux les plus utilisés dans l'isolement des moisissures à partir des fruits, du laitage, des céréales, des jus frais ou pasteurisés.

Extrait de malt : 20 g ; Glucose : 20 g ; Peptone : 20 g ; Eau distillée : 1 l (Pitt et Hocking, 2009).

***Milieu YESA (Yeast Extract Sucrose Agar)**

Extrait de levure : 20 g/l ; Saccharose : 150 g/l ; Agar : 15 g/l (Abdel-Hadi et al., 2011).

***Milieu NBY (Nutrient Broth Yeast Extract Agar)**

Bouillon nutritif : 8 g ; Extrait de levure : 2 g ; KH₂PO₄ : 0,5 g ; K₂HPO₄ : 2 g ; Glucose : 2 g ; Agar : 15 g ; Eau distillée : 1 l (Tang et al., 2019).

***Milieu MSA (Malt Salt Agar)** : Caractérisé par une a_w inférieure et donc approprié pour les moisissures du stockage comme *Aspergillus* et *Penicillium*.

Bouillon d'extrait de malt : 20 g ; Chlorure de sodium : 75 g ; Agar : 15 g ; Eau pure : 1 l (Medina et *al.*, 2006).

***Milieu SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar)** : Utilisé pour l'identification et l'entretien des souches de *Fusarium* et de *Cylindrocarpon*.

KH₂PO₄ : 1 g ; KNO₃ : 1 g ; MgSO₄, 7H₂O : 0,5 g ; KCl : 0,5 g ; Glucose : 0,2 g ; Saccharose : 0,2 g ; Agar : 20 g ; Eau distillée : 1 l (Leslie et Summerell, 2006).

5.2 Identification des champignons toxigènes

L'identification des champignons filamenteux en routine repose essentiellement sur l'analyse des caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques (Méthodes classiques). Ces méthodes d'identification peuvent être complétées par une analyse chimique et moléculaire, ou ce qu'on appelle l'approche polyphasique (Lecellier, 2013 ; Frisvad et *al.*, 2018).

A. Caractères morphologiques

L'identification morphologique des espèces fongiques après isolement puis culture sur l'extrait de levure Czapek Agar (CYA) et Malt Extract Agar (MEA) peut être effectuée selon les systèmes taxonomiques standard basés sur :

- la couleur de la colonie : jaune-vert, vertes, marron foncé, blanche...
- la forme de conidiophores : Unisériés, Bisériés (Figure 8);
- la dimension des conidies examinées au microscope : lisses, rugueuses...
- ainsi que la présence (ou l'absence) et la taille de sclérotés : grands, petits (Riba et *al.*, 2008 ; Ait mimoune et *al.*, 2016 ; Bouti et *al.*, 2019).

B. Caractères chimiques

De nombreuses méthodes d'analyses biochimiques (test de vapeur d'ammoniac, tests de fluorescence, HPLC ...) permettent de rencontrer les différentes informations sur les champignons. Parmi les critères étudiés pour l'identification des champignons toxigènes, on trouve celle de la couleur de colonies (sous la lumière UV : bleu, vert...), la nature des métabolites secondaires produites (Aflatoxines, ochratoxines, CPA...) (Rasheed et *al.*, 2019).

C. Caractères moléculaires

La détection des espèces fongiques productrices des mycotoxines tel que les fumonisines par des caractères morphologiques n'est parfois pas suffisante pour l'identification précise des isolats fongiques au niveau des espèces. Par conséquent, des méthodes améliorées et rapides telles que le séquençage de l'ADN et le test PCR spécifique à l'espèce pour identifier les champignons toxigènes sont devenues importantes pour prédire le risque mycotoxigénique potentiel des

isolats (Abo El Yazeed et *al.*, 2011). L'analyse par la PCR en utilisant les amorces spécifiques à l'espèce fongique a confirmé les identifications morphologiques des champignons (Rahjoo et *al.*, 2008). Divers tests PCR ont été développés pour l'identification des espèces toxigènes. Certains d'entre eux sont :

- basés sur des gènes à copie unique directement impliqués dans la biosynthèse des mycotoxines
- tandis que d'autres sont spécifiques à l'espèce.
- Les derniers amplifient souvent des séquences cibles multicopies, telles que les régions IGS ou ITS (espaceur intergénique et espaceur interne transcrit d'unités ADN_r, respectivement), ce qui augmente la sensibilité du test par rapport aux tests PCR basés sur des séquences à copie unique.

Des méthodes moléculaires telles que la réaction en chaîne par polymérase (PCR) ont été décrites pour résoudre les variations génétiques entre les isolats fongiques. En particulier :

- (RAPD) : polymorphisme de l'ADN amplifié au hasard
- (RFLP) : les polymorphismes de longueur des fragments de restriction de l'ADN_r

Ces méthodes ont été largement utilisées pour évaluer la diversité génétique, la cartographie du génome et le diagnostic moléculaire de nombreuses espèces fongiques. Les régions de l'ADN ribosomique (ADN_r) ont souvent été choisies pour des études taxonomiques et phylogénétiques, car les données de séquence sont disponibles et contiennent à la fois des régions variables et conservées. Exemple, afin d'identifier les 21 isolats de *Fusarium* obtenus au niveau moléculaire, l'analyse par PCR utilisant une amorce spécifique de la région d'ADN ITS conservée du genre *Fusarium* a été faite. Les données ont indiqué que, tous les 21 isolats présentaient une bande claire correspondant à la taille moléculaire de la région ITS (431 pb) et cette bande était absente dans l'échantillon témoin (*Aspergillus flavus*). Ces résultats confirment que tous les échantillons testés appartiennent au genre *Fusarium* (Figure 9) (Abo El Yazeed et *al.*, 2011). Parmi les amorces ITS de l'ADN_r qui ont été utilisés on a les amorces ITS1, 5, 4S ... (Frisvad et *al.*, 2019).

Pour l'identification préliminaire des isolats, les séquences obtenues ont été comparées aux séquences qui ont été déjà soumises dans GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) en utilisant la fonction nucléotidique Blast de NCBI (Rasheed et *al.*, 2019).

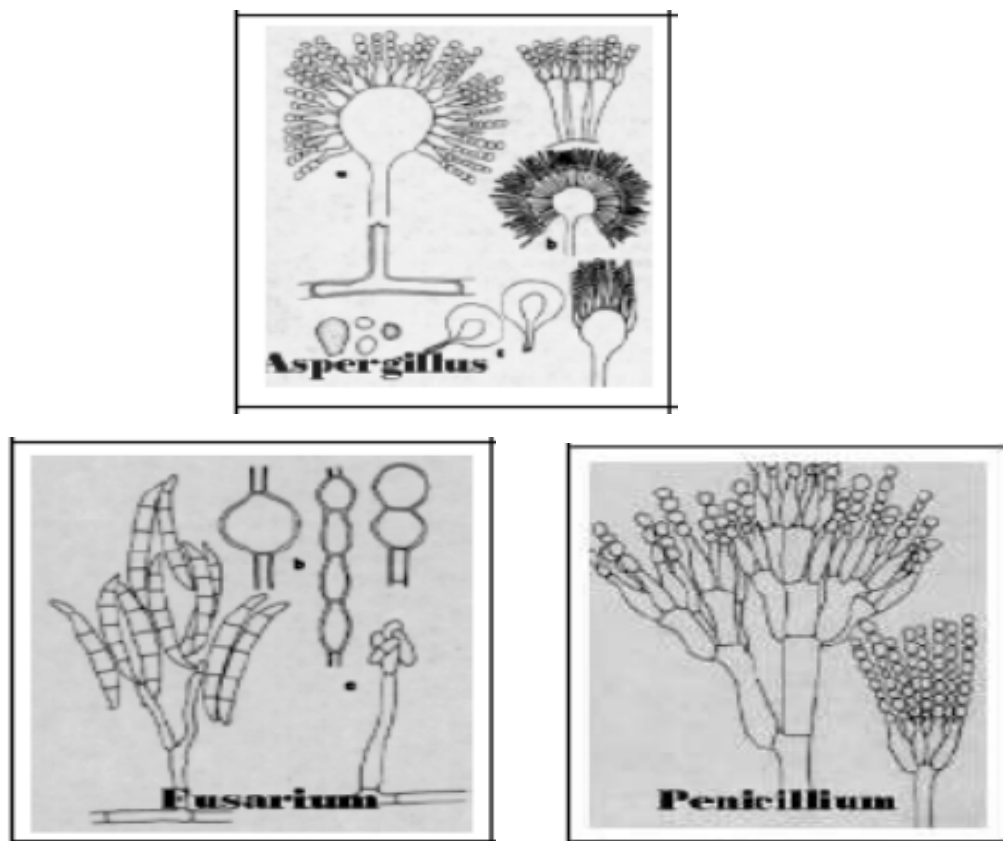


Figure 8. Structures micromorphologiques des moisissures rencontrées couramment dans les céréales (Riba, 2008).

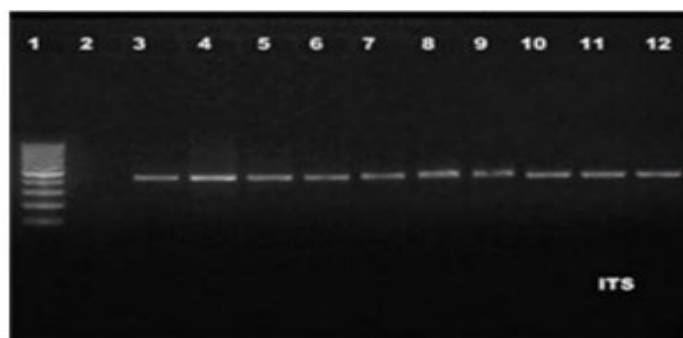


Figure 9. Electrophorèse sur gel d'agarose montrant une amplification de 431 pb. (ITS) fragment de la région d'espaceur transcrit interne de genre *Fusarium*. Piste (1) : échelle d'ADN (100 pb), Piste (2) : *Aspergillus flavus* (contrôle négatif), Pistes (3-12): isolats de *Fusarium* (échantillons) (Abo El Yazeed et al., 2011).

6. Toxinogène (paramètres physiologiques et physicochimiques)

6.1 Paramètres physiologiques

La biosynthèse des mycotoxines est affectée par certains facteurs, y compris le stade de développement des cultures et le stress oxydatif.

A. Stade de développement de la culture

Le manque de sporulation fongique et de sous-cultures en série a entraîné la perte de capacité de production d'AF.

B. Stress oxydatif

Le stress oxydatif a été proposé comme un élément essentiel de la réponse cellulaire fongique pour déclencher la synthèse de l'AF grâce à la production d'espèces réactives de l'oxygène. Donc le stress oxydatif a considéré comme une condition préalable à la synthèse d'AF (Iqbal et *al.*, 2019).

6.2 Paramètres physicochimiques

A. Paramètres physiques

A.1. Activité de l'eau

La disponibilité de l'eau dans les aliments est plus facilement mesurée comme activité de l'eau (Pitt et Hocking, 2009). C'est l'un des principaux facteurs physiques ayant une influence considérable sur la croissance des champignons et la production des mycotoxines. La plupart des champignons se développent à un a_w de 0,8. En général, l' a_w optimale pour la production de mycotoxines est supérieure à celle de la croissance du champignon (Riba, 2008) (Tableau 8).

A.2. Température

La température est un déterminant majeur qui altère la croissance des champignons, la croissance et la production ultérieure des mycotoxines (Iqbal et *al.*, 2019). La température optimale de toxinogène est, en général, voisine de 22 to 29 °C (Benkerroum, 2020). Les températures basses et élevées diminuent la viabilité fongique et la production d'AF résultante et la température optimale pour la synthèse d'AF variait de 24 ° C à 30 ° C (Iqbal et *al.*, 2019).

A.3. Lumière

La lumière est un facteur critique affectant la production de mycotoxines par de nombreuses espèces fongiques qui menacent la sécurité alimentaire. En général, la capacité *in vitro* des espèces *Aspergillus* et *Penicillium* à produire les toxines a considérablement augmenté dans des conditions d'obscurité (Gil-Serna et *al.*, 2019).

B. Paramètres chimiques

B.1. Concentration d'ions hydrogène (pH)

Le pH optimum de la production des mycotoxines a lieu aux voisinages des pH optimums de croissance (Riba, 2008). Cependant, lorsque le pH s'éloigne de l'optimum, généralement environ pH 5, l'effet d'autres facteurs limitant la croissance peut devenir apparentes lorsqu'elles sont superposées au pH (Pitt et Hocking, 2009). 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 (Gauthier, 2016). Certains champignons conidiens sont capables de croître jusqu'à pH 2, et les levures jusqu'à pH 1,5. La figure 10 est une présentation de l'influence combinée du pH et de a_w sur la croissance microbienne (Pitt et Hocking, 2009).

B.2. Composition gazeuse

La majeure partie des micromycètes est aérobie, c'est-à-dire que ces champignons ont besoin d'oxygène, pour pouvoir se développer. Certains peuvent vivre en anaérobiose (Gauthier, 2016). Par conséquent, les concentrations en oxygène (O₂) et en dioxyde de carbone (CO₂), jouent un rôle important dans la croissance et la production de mycotoxines chez de nombreuses moisissures. Les teneurs en ces gaz diffèrent d'une espèce à une autre (Riba, 2008). 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 (tableau 9) (Gauthier, 2016).

B.3. Nature du substrat

Les acides aminés, le carbone, l'azote, les lipides et les oligo-éléments, sont des sources nutritionnelles qui affectent la biosynthèse des mycotoxines (Iqbal et al., 2019).

B.4. Traitements chimiques du milieu

L'emploi d'insecticides réduit l'apparition de mycotoxines, soit par action antifongique directe sur le champignon, soit en prévenant les lésions au niveau des graines dues aux insectes et aux acariens. Si les fongicides utilisés au champ ou employés en tant qu'additifs ou agents de conservation sont appliqués avec succès, le risque de contamination en mycotoxines est faible. Il convient toutefois d'être prudent dans l'emploi de ces substances. En effet, certaines études ont montré qu'à concentration sub-létale, la production de mycotoxines est favorisée (Riba, 2008).

Tableau 8. Activité de l'eau et relations microbiennes avec l'eau en perspective (Pitt et Hocking, 2009).

a_w	Perspective	Aliment	Moisissures	Levures
1,00	Sang, point de flétrissement végétal, l'eau de mer.	Légumes, viande, lait, fruits		
0,95	La plupart des bactéries	Pain	Les Basidomycètes, la plupart des champignons du sol	Les Basidomycètes
0,90		Jambon	<i>Fusarium mucorales</i>	La plupart des Ascomycètes
0,85	<i>Staphylococcus aureus</i>	Salami sec	<i>Rhizopus</i> , <i>Cladosporium</i>	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> (sel)
0,80			<i>A.flavus</i> , <i>Penicillia xérophiles</i>	<i>Zygosaccharomyces bailii</i>
0,75	Lac salé, Halophiles	Confitures Poisson salé Tarte de fruits	<i>Aspergilli xérophiles</i> <i>Wallemia</i> <i>Eurotium</i>	<i>Debaryomyces hansenii</i>
0,70		Confiserie Fruits secs Graiens sèches	<i>Chrysosporium</i> <i>Eurotium halophilicum</i>	
0,65			<i>Xeromyces bisporus</i>	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> (sucre)
0,60	ADN dénaturé			

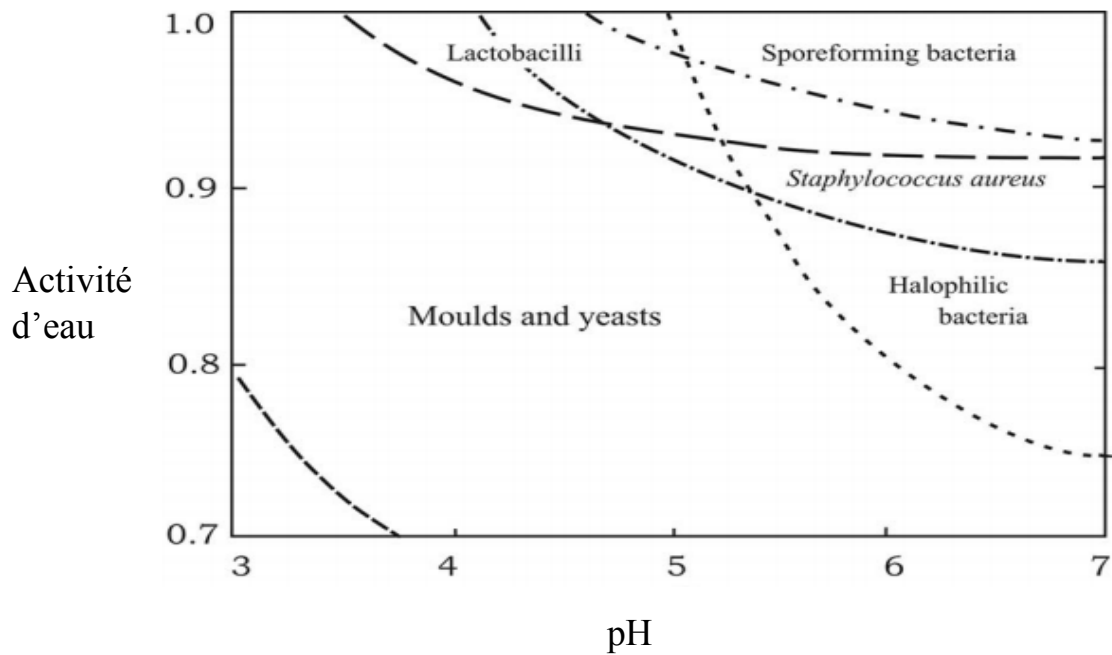


Figure 10. Diagramme schématisant l'influence combinée de l'activité de l'eau et du pH sur la croissance microbienne (Pitt et Hocking, 2009).

Tableau 9. Impact de la restriction d'O₂ sur *Fusarium proliferatum* et la production de FB₁ (Gauthier, 2016).

	Biomasse g/L	FB ₁ µg/g
Présence d'O₂	14,1 ± 0,5	533 ± 88,4
Absence d'O₂	4,3 ± 0,3	Non décelable

7. Méthodes d'analyse des mycotoxines

La gestion des mycotoxines ne peut pas être accomplie sans la compréhension de quand, où et à quel degré elles surviennent. Alors, la détection et la quantification des mycotoxines sont des composants principaux de leur gestion, recommandés pour la surveillance, le diagnostic et l'atténuation, et la recherche (Munkvold et *al.*, 2019).

Une double vérification peut être considérée pour répondre aux préoccupations de la sécurité alimentaire et aux protocoles législatifs officiels. D'abord, l'occurrence des champignons ayant le potentiel de produire des toxines biologiques peut être testée aux stades critiques pendant la production de denrées agricoles ainsi que pendant le processus de préparation de l'aliment. La détection précoce de ces champignons peut prévenir la contamination des produits et protéger les consommateurs. Par la suite, les mycotoxines peuvent être directement détectées dans l'échantillon en utilisant des méthodes analytiques capables de performer des dosages hautement sélectives (Shabani-Gholami et *al.*, 2017).

Le choix de la méthode analytique est souvent un compromis entre la fiabilité et la précision d'un côté, le coût et la commodité d'un autre. Il y a un besoin pressant des méthodes rapides et peu coûteuses qui n'exigent pas des compétences techniques pour qu'elles puissent être performées sur le terrain. Pour un test rapide, un test qualitatif ou semi-quantitatif est acceptable. Les déterminations les plus précises exigent généralement des procédures de laboratoire plus coûteuses et plus longues. Plusieurs organisations sont impliquées dans la révision et la certification des méthodes pour les analyses des mycotoxines, y compris l'association internationale des chimistes analytiques officiels (AOAC), l'union internationale pour la chimie pure et appliquée, l'association américaine des chimistes des céréales, et la société américaine des chimistes du pétrole (Munkvold et *al.*, 2019).

7.1 Procédures générales

-L'échantillonnage : La détermination des mycotoxines dans les graines et dans le fourrage est une affaire compliquée, et l'un des aspects les plus importants de l'évaluation de la teneur en mycotoxines est l'obtention d'un échantillon représentatif. Ceci est difficile parce que les mycotoxines ne sont pas distribuées d'une façon uniforme parmi les charges des graines ou dans les champs, généralement un petit pourcentage des graines est contaminé, et le niveau de contamination d'une seule graine peut être très élevé. Il est difficile de procéder à un plan d'échantillonnage suffisamment précis à cause des faibles tolérances aux toxines et leur distribution positivement biaisée dans les échantillons. Il existe beaucoup de sources de variabilité impliquées dans la quantification des mycotoxines, et l'échantillonnage est souvent la source d'erreur la plus importante. Des méthodes d'échantillonnage et des astuces pour atténuer les effets de la distribution hétérogène des mycotoxines ont été décrites. L'échantillonnage peut être effectué sur le champ, à partir des lots de grains statiques, ou à partir des lots de grains dynamiques ou mobiles. Idéalement, l'échantillon devrait être aléatoire.

-Le broyage et l'homogénéisation.

-L'extraction : La plupart des méthodes exigent que les mycotoxines soient extraites à partir du matériel solide à une phase liquide, ce qui est fait en utilisant des solvants organiques ou des mélanges de solvants et de l'eau. Cette étape est cruciale, car seules les mycotoxines extraites peuvent être quantifiées, et donc les résultats finaux sont hautement influencés par l'efficacité de l'extraction. Le choix du solvant de l'extraction dépend des propriétés chimiques des mycotoxines ainsi que les propriétés de la matrice. Généralement, les mycotoxines sont extraites avec des solvants organiques comme le méthanol, l'acétone, l'acétonitrile ou le chloroforme. Ces solvants peuvent être utilisés en combinaison avec de l'eau, un acide dilué, ou une solution aqueuse saline pour aider à rompre les interactions électrostatiques faibles qui lient les mycotoxines à d'autres molécules du substrat. La sélection du solvant pour l'extraction et la redissolution sont critiques parce qu'elles influencent la récupération de la mycotoxine. Ainsi, la polarité de la toxine et du solvant est l'une des propriétés principales à prendre en considération dans l'étape de l'extraction. Les solvants sont mélangés avec les échantillons solides soit dans un blender à haute vitesse (3 à 5 min) soit sur un agitateur (10 à 30 min), le blender est plus rapide mais moins docile à un grand nombre d'échantillons. Après l'extraction, la filtration et la centrifugation sont des étapes importantes pour enlever les particules interférées.

-Nettoyage : Les extraits à partir des denrées alimentaires sont contaminés par des impuretés qui peuvent interférer avec la détection des mycotoxines. Généralement, ces extraits seront nettoyés en utilisant différentes méthodes. La majorité des analyses quantitatives exigent ce nettoyage. Ceci peut être effectué par : Des colonnes d'extraction phase solide (SPE) ou des colonnes d'immunoaffinité (IAC). Le principe est de faire passer les impuretés par les colonnes (contenant des AC spécifiques, dans le cas de l'IAC) qui adsorbent les mycotoxines, puis une autre solution de rinçage est employée pour récupérer la mycotoxine à partir de la colonne.

-Concentration : Généralement performée sur un évaporateur rotatoire à moins de 50°C dans un bain Marie sous faible pression. Lorsque les extraits sont finalement secs, l'évaporation sous un courant de nitrogène sur un bloc d'aluminium chauffé à moins de 50°C est recommandée.

-Analyse : La séparation finale et la détection des composants d'intérêt sont souvent effectuées soit par des méthodes immunochimiques soit par des techniques chromatographiques suivies par d'autres méthodes de détection. Le choix de la méthodologie pour la quantification et la détection des mycotoxines dépend des objectifs de l'analyse (Munkvold et *al.*, 2019) (Figure 11).

7.2 Les méthodes basées sur la culture

Les méthodes sensibles ne sont pas disponibles partout, d'où l'utilisation de ces méthodes faciles à utiliser, peu coûteuses et reproductibles (Naik et *al.*, 2018). Parmi les tests de production des mycotoxines sur milieu de culture qui sont surtout utilisés pour la détection des AFs, on peut mentionner :

-Le test de production sur milieu CAM (Coconut Agar Medium): Le milieu CAM est préparé comme suit : 50% de crème de noix de coco est homogénéisé dans 1l d'eau bouillie pendant

5 min. Après filtration, de l'agar à 20g/l est ajouté et le tout est porté à ébullition. Après refroidissement, le milieu CAM est autoclavé et mixé (Abdel-Hadi et *al.*, 2011). Les conidies sont incubées sur ce milieu de culture (qui peut être supplémenté par de la β -cyclodextrine à 0,3%) dans l'obscurité à 28°C pendant 7 jours. Les revers sont observées sous rayons UV à 365 nm pour détecter la fluorescence bleue ou bleu-vert, et/ou sous la lumière du jour pour détecter la coloration orange-jaune vive du revers de la colonie (Azzoune et *al.*, 2015). Un témoin (milieu CAM stérile non inoculé incubé dans les mêmes conditions) peut être utilisé (Ait Mimoune et *al.*, 2016). S'il s'agit d'un test de production des OTA, les isolats sont incubés sur milieu CYA (Bouti et *al.*, 2019) ;

- **le test de la vapeur de l'hydroxyde d'ammonium** : Selon la méthode de Saito et Machida (1999), les isolats sont incubés sur milieu PDA à 25°C pendant 3 jours. Ensuite, une goutte d'ammoniac à 25% est versée sur le couvercle des boîtes Pétri, et ces dernières sont mises à l'envers. Si la couleur du revers de la colonie change vers le rosâtre, les mycotoxines sont produites (Rasheed et *al.*, 2019). Il est possible aussi d'utiliser le milieu YESA ;

-**le test de fluorescence du milieu supplémenté par le charbon actif** : Le milieu de culture (PDA ou YESA) est préparé avec addition du charbon actif à 0,3% et de la cyclodextrine à 3%. Ensuite, le milieu de culture est inoculé par les isolats et incubé à 25°C pendant 2 à 3 jours. Enfin, le revers de colonie est observé sous UV à 325 nm : Les productrices d'AFB₁ et AFB₂ ont une fluorescence bleue, et les productrices des 4 types d'AF ont une fluorescence vert-bleuâtre (Rasheed et *al.*, 2019).

Bien que plusieurs méthodes basées sur la culture ont été et sont toujours utilisées, elles manquent de sensibilité et de reproductibilité (Naik et *al.*, 2018). Donc, La seule méthode fiable pour estimer la contamination par les mycotoxines est de procéder à un test biochimique ou immunologique (Munkvold et *al.*, 2019).

7.3 Les méthodes conventionnelles

L'analyse par chromatographie. Très utilisées pour la détection et le dosage des mycotoxines, elles ont été souvent prises comme référence à cause de leur précision et leur reproductibilité.

-**La chromatographie sur couche mince (CCM)** : Elle se déroule sur une surface solide de cellulose ou gel de silice (phase stationnaire). Les composants de l'échantillon migrent d'une façon ascendante vers la surface par le solvant (phase mobile) qui est transporté sur la couche adsorbante par capillarité. Quelques mycotoxines sont détectées par UV, et d'autres laissent une tache visible après pulvérisation par un réactif. Les différences d'adsorbance et de solubilité entre les composants permettent la séparation, et la comparaison avec les étalons permet l'identification des spots individuels (Munkvold et *al.*, 2019). Cette chromatographie est limitée par sa mauvaise séparation, sa précision insatisfaisante et sa faible sensibilité (Filazi et Sireli, 2013).

-**Les méthodes chromatographiques en phase liquide** : Parfois couplée à la détection de fluorescence, l'HPLC (Chromatographie liquide à haute performance) est largement utilisée. Les

mycotoxines sont caractérisées par leur petite taille et leur polarité, et donc la HPLC en phase inverse (RPC) est la plus adaptée. Une phase mobile polaire (eau, méthanol, acétonitrile ou un mélange de ces solvants) et une colonne non polaire (phase stationnaire) sont employés. Une petite quantité de l'extrait est injectée dans la phase mobile. L'appareil est constitué d'une pompe, qui permet la migration du solvant dans la phase stationnaire. Suite à la séparation des composants de l'extrait, les mycotoxines sont détectées et quantifiées par spectrophotométrie ou par fluorescence. Toutefois, cette technique prend beaucoup de temps pour obtenir une séparation complète des composés cibles et en outre, dans la fin d'améliorer les limites de détection d'AFB₁ et AFG₁, une dérivation fastidieuse avant (par l'acide trifluoroacétique) ou après colonne (par bromination) doit être effectuée (Filazi et Sireli, 2013 ; Munkvold et *al.*, 2019).

-La spectrométrie de masse (MS) : C'est une technique qui détermine la masse d'une substance après son ionisation. Un spectromètre de masse est composé d'une source où s'effectuent l'ionisation et la désorption des ions, un analyseur où les ions sont séparés en fonction de leur rapport masse/charge (m/z) et d'un détecteur permettant l'enregistrement et la quantification des ions. Deux modes d'ionisation sont utilisés : La désorption / ionisation laser assistée par matrice (MS Maldi-Tof) qui repose sur la cristallisation de l'échantillon sur une matrice et la mesure du rapport m/z des composants en temps de vol (Tof) ; et la spectrométrie de masse en tandem en mode nanospray (ESI-MS/MS) utilisée pour les mélanges complexes et employant un électrospray (formé de microgouttelettes hautement chargées) à partir de l'échantillon, ces microgouttelettes rendent possible l'analyse de molécules de grande masse moléculaire sur des analyseurs quadripolaires conventionnels (Benhaim, 2017 ; Munkvold et *al.*, 2019).

7.4 Les méthodes rapides pour la détermination des mycotoxines : L'analyse immunochimique.

-ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) : Rapide et précise, cette technique est très utile pour traiter le nombre croissant des matrices alimentaires et des mycotoxines d'intérêt. Comme les mycotoxines ont une petite masse moléculaire, ELISA par compétition est souvent utilisée. Des anticorps anti-mycotoxines en défaut sont immobilisés sur une plaque et un mélange de toxines marquées et des toxines d'intérêt non marqués est incubé sur la plaque. Puis, un rinçage est effectué pour enlever les mycotoxines non liées et un substrat chromogène est ajouté. Le produit coloré est quantifié par spectrophotométrie, sachant que l'activité enzymatique est inversement proportionnelle à la concentration des mycotoxines dans l'échantillon (Munkvold et *al.*, 2019).

-Immunodosage à flux latéral (les bandelettes) : Ce test consiste en une membrane poreuse de nitrocellulose divisée en 3 zones (phase solide). La première zone contient des AC spécifiques marqués. Suite à l'ajout de l'échantillon liquide (phase mobile), le complexe Ag/AC est formé. Puis, le complexe migre dans la solution à travers la membrane vers la 2^{ème} zone où l'analyte est capturé avec un 2^{ème} AC formant une ligne visible. L'excès d'AC migre vers la 3^{ème} zone où il est capturé par un 3^{ème} AC et une coloration est apparue selon la concentration des mycotoxines. Les résultats sont évalués visuellement (test qualitatif). Cette technique est simple mais non sensitive (Munkvold et *al.*, 2019).

7.5 Techniques émergentes

-**Mycotoxines masquées** : Ces mycotoxines échappent souvent aux analyses de détection à cause des modifications structurales en plus du manque ou l'absence des étalons appropriés. Une solution a été suggérée est leur quantification indirecte par hydroxylation à leur structure d'origine en utilisant des enzymes ou des solutions acides (Munkvold et *al.*, 2019).

-**Biocapteurs** : Sont caractérisés par un élément biologique (élément de reconnaissance) qui interagit avec l'analyte cible. Les éléments de reconnaissance peuvent être des biopuces, des électrodes enrobés d'AC-protéines... (Munkvold et *al.*, 2019). Récemment, les aptamères ont montré qu'ils peuvent rivaliser avec les AC comme récepteurs biologiques autant qu'outil analytique. Ces oligonucléotides à simple brin sont sélectionnés *in vitro* dans un temps limite comparés à la production d'AC et sont plus stables dans une large gamme de conditions. En outre, ils peuvent être facilement modifiés et marqués offrant une flexibilité au progrès d'une large gamme de tests d'évaluation (Shabani-Gholami et *al.*, 2017).

- **Les techniques optiques non invasives** : Le principe est de soumettre l'échantillon à une source lumineuse externe avec une longueur d'onde connue. Cette lumière est partiellement absorbée et diffusée à cause de son interaction avec les composants chimiques de l'échantillon. L'atténuation de la lumière est décrite selon l'équation : $I = I_0 e^{-\mu_{\text{eff}}}$, avec : I l'intensité de la lumière réfléchie, I_0 l'intensité de la lumière incidente, μ_{eff} le coefficient d'atténuation effective (Jahangiri et *al.*, 2014 ; Shabani-Gholami et *al.*, 2017).

-Les méthodes hautement sophistiquées multi-mycotoxines basées sur la chromatographie liquide couplée à MS (**LC-MS/MS**) en plusieurs étapes pour permettre une détermination exacte et précise et une identification non-ambigüe des toxines sans avoir besoin de préparation fastidieuse d'échantillons et de procédures de nettoyage (Shabani-Gholami et *al.*, 2017).

7.6 Les outils de la mycologie prédictive

Il s'agit de la modélisation. Les modèles de prédiction peuvent fournir des données importantes concernant la contamination des aliments par les mycotoxines durant le transport et le stockage, et permettre aux industriels à réduire les tests et assurer la qualité et la sûreté des produits et établir une durée de conservation adéquate. La modélisation est limitée comme méthode analytique car elle est souvent effectuée dans des conditions de température et pression osmotique stables, or que les conditions réelles pendant la chaîne alimentaire changent, notamment la température de stockage. De plus, les paramètres cinétiques de la production des mycotoxines sont moins connus et sont caractérisées par la variabilité intra-spécifique. Donc, il est important que les modèles développés prennent en considération le comportement d'une large gamme de souches. L'utilisation d'un mélange de souches a été proposée par les auteurs. Comme cette méthode est chère et longue, l'utilisation d'un inoculum mixte avec une variété de souches pour développer l'expérience a été étudiée (Aldars-Garcia et *al.*, 2015).

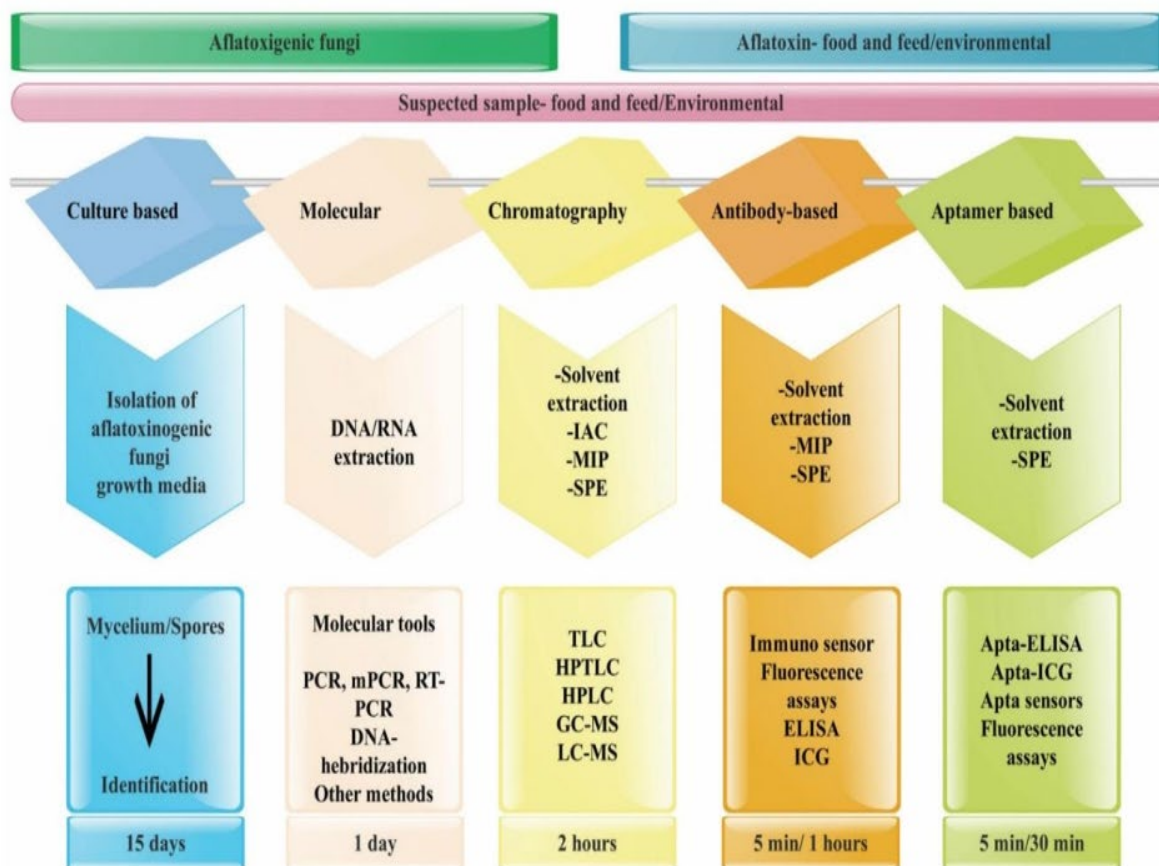


Figure 11. Les techniques modernes et traditionnelles pour la détection des mycotoxines (exemple des aflatoxines) et des champignons toxigènes dans un échantillon donné (Shabani-Gholami et *al.*, 2017).

8. Réglementation relative aux mycotoxines dans le monde et en Algérie

Vu les risques sanitaires des mycotoxines cités auparavant, plusieurs pays et organismes ont établi des réglementations qui limitent le taux des mycotoxines dans les produits destinés à la consommation (Tableaux 10 et 12).

Compte tenu des faibles niveaux de contamination par les toxines de *Fusarium*, aucune teneur maximale réglementaire n'est fixée pour le riz et les produits à base de riz. Une recommandation européenne sur les toxines T-2 et HT-2 est parue en mars 2013. Elle a pour objectif de mettre en place une surveillance sur la présence de ces toxines dans les céréales et les produits à base de céréales, destinés à l'alimentation humaine. Cette recommandation ne fixe pas de limites maximales, mais des niveaux indicatifs (Intercéréales, 2019).

L'établissement de réglementations en matière de mycotoxines est une opération très complexe. Les limites maximales ne sont pas seulement basées sur les considérations toxicologiques mais d'autres facteurs socioéconomiques et techniques parce que si les limites maximales étaient seulement basées sur la toxicologie, elles auraient été plus basses car les risques sanitaires ne peuvent pas être complètement éliminés avec les stratégies de sécurité normalement appliquées, ce qui peut résulter à un rejet plus important des denrées alimentaire et donc un risque de manque des aliments, surtout dans les pays en voie de développement. Les facteurs sur lesquels sont basées les réglementations des mycotoxines sont :

- disponibilité de données toxicologiques ;
- disponibilité de données sur la présence de mycotoxines dans divers produits ;
- type de la mycotoxine ;
- connaissance de la répartition des concentrations de mycotoxines dans un lot ;
- type de produit alimentaire ;
- les habitudes alimentaires de la région et le taux de consommation d'un aliment donné ;
- disponibilité de méthodes d'analyse et faisabilité technique ;
- les facteurs socioéconomiques tels que l'alphabétisation ;
- les conditions climatiques du pays ;
- législation des pays avec lesquels des contacts commerciaux existent ;
- le statut économique du pays et la nécessité d'un approvisionnement alimentaire suffisant (Riba, 2008 ; Smith et *al.*, 2016 ; Ismail et *al.*, 2018).

Tableau 10. Règlement européen fixant les limites maximales en certains produits destinés à l'alimentation humaine (règlement CE n° 1881/2006 modifié par le règlement CE n°1126/2007, cité par Forget-Richard et Oswald, 2012).

Produits	Mycotoxines	Valeur en µg/kg
Arachides, fruits à coque, fruits séchés et produits dérivés de leur transformation destinés à la consommation humaine directe ou à une utilisation comme ingrédients de denrées alimentaires	AFB1	2
	AFB1+AFB2+AFG1+AFG2	4
Toutes les céréales et produits dérivés des céréales destinés à la consommation humaine directe (adultes)	AFB1	2
	AFB1+AFB2+AFG1+AFG2	4
Lait cru, lait traité thermiquement et lait destiné à la fabrication de produits laitiers	AFM1	0,05
Céréales brutes	OTA	5
Grains de café torréfié et café torréfié moulu	OTA	5
Café soluble	OTA	5
Toutes les produits dérivés des céréales destinés à la consommation humaine directe	OTA	2
Vins, boissons aromatisées à base de vin, jus de raisin	OTA	2
Jus de fruits, jus de fruits concentrés reconstitués et nectars	Patuline	2
Céréales brutes autres que le blé dur, avoines et le maïs	DON	1250
Blé dur et avoine bruts	DON	1750
Maïs brut	DON	1750
Pains	DON	500
Pâtes (sèches)	DON	750
Céréales brutes autres que le maïs	ZEA	100
Maïs brut	ZEA	350
Maïs brut	FB1+FB2	4000
Céréales petits déjeuners à base de maïs	FB1+FB2	800
Alimentation à base de maïs pour nourissons	FB1+FB2	200

Tableau 11. Recommandation européenne pour les concentrations de T-2 et HT-2 dans les aliments destinés aux Hommes (Intercéréales, 2019).

	Niveaux indicatifs pour la somme de T-2 et HT-2 (µg/kg) ²
1. Céréales non transformées ⁴	
Avoine (non décortiquée)	1 000
Orge (y compris orge de brasserie) et maïs	200
Blé, seigle et autres céréales	100
2. Grains de céréales pour consommation humaine directe ⁵	
Avoine	200
Maïs	100
Autres céréales	50
3. Produits à base de céréales destinés à la consommation humaine	
Son d'avoine et flocons d'avoine	200
Son de céréales, à l'exception du son d'avoine, produits de la mouture de l'avoine autres que le son d'avoine et les flocons d'avoine, et produits de la mouture du maïs	100
Produits de la mouture d'autres céréales	50
Céréales pour petit-déjeuner, y compris sous forme de flocons	75
Pain (y compris les petits produits de boulangerie), pâtisseries, biscuits, collations à base de céréales, pâtes alimentaires	25
Aliments à base de céréales pour nourissons et jeunes enfants	15

Tableau 12. Limites maximales des mycotoxines dans les denrées destinées à l'alimentation humaine selon certains pays (Shabani-Gholami et al., 2017 ; Asemoloye et al., 2017 ; Tantaoui-Elaraki et al., 2018 ; Ismail et al., 2018 ; Cinar et Onbasi, 2019 ; Mahdjoubi et al., 2020).

Pays	Aliment	Mycotoxine	Valeur (µg/kg)
Iran	Noix et graines comestibles	AFB ₁	5
		AFs totales	15
	Fruits secs	AFB ₁	5
		AFs totales	15
	Aliments pour nourrissons à base des céréales au lait	AFB ₁	1
		AFM ₁	1
	Orge	AFs totales	50
		AFB ₁	5
	Maïs, riz	AFB ₁	30
		AFs totales	5
	Blé	AFB ₁	5
		AFs totales	15
	Légumes	AFB ₁	5
		AFs totales	10
	Lait (cru, pasteurisé, stérilisé)	AFM ₁	0,05
	Poudre du lait	AFM ₁	0,5
Fromage	AFM ₁	0,01	
Beurre	AFM ₁	0,2	
Autres laitages	AFM ₁	0,02	
Canada	Blé brut	Déoxynivalénol	2000
		T-2 + HT-2	100
	Noix et produits dérivés	AF	15
Japon	Blé brut	Déoxynivalénol	1100
	Toutes les denrées alimentaires	AFB ₁	10
Chine	Maïs et produits dérivés, arachides et produits dérivés	AFB ₁	20
	Riz (riz brun)		10
	Huile végétale comestible		5
	Orge de blé brut, autres céréales		
	Sauce de soja, pâte de céréales, vinaigres, autres graines, haricots, aliments fermentés, produits d'amidon, riz rouge, pâtisserie, pain,		

	additifs alimentaires à base d'amidon, huile à salade		
	Maïs, orge, blé, autres céréales	DON	1000
	Céréales brutes	OTA	5
	Blé et maïs bruts	ZEA	60
Chine	Lait cru, pasteurisé ou lait pour nourrissons	AFM ₁	0,5
Australie et Nouvelle-Zélande	Arachides et noix	AF	5
Chile	Toutes les denrées alimentaires	AF	5
	Lait	AFM ₁	10
Inde	Toutes les denrées alimentaires	AF	30
Italie	Plantes d'infusion	AFB ₁	5
		AFs	10
	Aliments pour nourrissons	AFM ₁	0,01
Mecosur (marché commun du sud)	Arachides, maïs et produits dérivés	AFs	20
	Lait liquide	AFM ₁	0,5
	Lait poudre		5
Etats-Unis	Toutes les denrées alimentaires sauf le lait	AFs	20
	Lait	AFM ₁	0,5
Argentine	Noix enrobés de sucre	AFB ₂ + AFG ₁ + AFG ₂	5
	Arachides et maïs et leurs produits dérivés	AFB ₁	5
		AFB ₂ + AFG ₁ + AFG ₂	20
	Aliments destinés aux nourrissons à base des céréales	AFB ₁	2
	Lait cru, pasteurisé ou lait pour nourrissons	AFM ₁	0,05
Colombie	Graines de sésame	AF	20
	Arachides		10
	Céréales		30
Allemagne	Lait cru, pasteurisé ou lait pour nourrissons.	AFM ₁	0,05

Turquie	Lait cru, pasteurisé ou lait pour nourrissons	AFM ₁	0,05
	Riz et maïs	AFB ₁	2
	Epices	AFB ₁	5
Suisse	Lait cru, pasteurisé ou lait pour nourrissons	AFM ₁	0,05
Suède			
Belgique			
Honduras			
Bulgarie	Lait cru, pasteurisé ou lait pour nourrissons	AFM ₁	0,5
Tchèque			
Kuwait			
Serbie			
Brésil	Lait cru, pasteurisé ou lait pour nourrissons	AFM ₁	0,5
	Riz, maïs, épices, jus de fruits	AFB ₁ AFG ₁	30
Hongrie	Riz, maïs	AFs totales	50
		OTA	5
France	Lait cru, pasteurisé ou lait pour nourrissons	AFM ₁	0,05
	Riz, maïs	FB ₁	1000
Maroc	Céréales et produits dérivés	AFB ₁	2
		AFs totales	4
		OTA	5
	Arachides, autres oléagineuses et produits dérivés	AFB ₁	2
		AFs totales	4
	Amandes, pistaches et graines d'abricot	AFB ₁	8
		AF totales	10
	Noisettes et Noix du Brésil	AFB ₁	5
		AFs totales	10
	Fruits secs et produits dérivés	AFB ₁	2
		AF totales	4
	Epices	AFB ₁	6
		AFs totales	10
		OTA	15
Aliments à base des céréales destinés	AFB ₁	0,1	

	aux nourrissons et aux jeunes enfants	OTA	0,5	
		ZEA	20	
		DON	200	
	Figues sèches	AFB ₁	6	
		AFs totales	10	
	Lait liquide	AFM ₁	0,05	
	Céréales brutes	OTA	5	
	Produits dérivés des céréales brutes		3	
	Graines du café grillées		5	
	Café soluble		10	
	Aliments pour nourrissons à des fins médicales		0,5	
	Maïs brut		ZEA	350
			DON	1750
		FB ₁ + FB ₂	4000	
	Maïs destiné à la consommation directe	ZEA	100	
FB ₁ + FB ₂		1000		
Céréales petit déjeuner à base du maïs	FB ₁ + FB ₂	800		
Aliments à base du maïs destinés aux nourrissons et aux jeunes enfants	FB ₁ + FB ₂	200		
Tunisie	Céréales et leurs produits dérivés	AFB ₁	2	
Algérie	Toutes les denrées alimentaires	AFB ₁	10	
		AFs totales	20	

En Algérie, les articles 3, 4 et 5 de l'arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires stipulent que ces dernières ne doivent pas contenir des micro-organismes ni leurs toxines ou métabolites dans quantités qui présentent des risques inacceptables pour la santé du consommateur, et que les intervenants responsables de la mise à la consommation des denrées alimentaires doivent veiller au respect de ces critères. Si par exemple la quantité des moisissures est supérieure à 10⁴ UFC/g dans les farines et les semoules, ces produits sont inacceptables (Journal Officiel de la République Algérienne n°39).

Comme nous constatons dans le tableau 12, les pays du Maghreb ont un manque dans les textes législatifs concernant la limitation de la présence des mycotoxines dans les denrées alimentaires. Pendant que la Tunisie ne contrôle que l'AFB₁, l'Algérie a établi les mêmes limites pour l'AFB₁ et les AFs totales respectivement pour tous les aliments. Le Maroc semblerait avoir une réglementation plus stricte, mais nous remarquons qu'elle est quasi identique à celle de l'Union Européenne (Tantaoui-Elaraki et *al.*, 2018).

Chapitre II

Les mycotoxines dans les céréales

1. Introduction

Les céréales et leurs dérivés en particulier le blé, le maïs, et le riz sont les principaux aliments destinés à la consommation humaine dans le monde. Elles sont susceptibles d'être envahies par les moisissures pendant la récolte, la transformation, le transport ou le stockage. La croissance fongique des genres *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* est l'une des principales causes de la détérioration des céréales. Elle génère non seulement de grandes pertes économiques, mais peut également provoquer une intoxication aiguë ou chronique chez l'Homme, dues à l'ingestion des mycotoxines telles que les aflatoxines (AFs), l'ochratoxine A (OTA), les fumonisines (FUM), la zéaralénone (ZEA) et les trichothécènes notamment la déoxynivalénol (DON). La présence des mycotoxines dans les aliments est un phénomène inévitable par conséquent, des teneurs maximales des mycotoxines en particulier dans les céréales sont fixées par les autorités concernées pour diminuer les risques toxiques des mycotoxines.

2. Etat de l'art sur la contamination dans le monde et dans le Maghreb

2.1 Cas du blé

Le blé est la source la plus importante des glucides, fournissant 1/5 des sources caloriques de la population au monde et environ la moitié des résidents du nord d'Afrique, de la Turquie et du centre d'Asie. Le blé est transformé en plusieurs produits selon le type : La semoule, les pâtes et le couscous à partir du blé dur, la farine, la pâtisserie et les biscuits à partir du blé tendre (Chakraborty et Newton, 2011).

Les mycotoxines majeures retrouvées dans le blé sont celles produites par les espèces du genre *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* qui, en plus de leurs risques sanitaires, ont des effets négatifs sur les qualités organoleptiques et les performances de transformation industrielle du blé. Bien que le niveau de contamination du blé par les mycotoxines varie selon la région, l'année, les conditions climatiques, la variété et le temps de semis, la DON a été la mycotoxine la plus commune, suivie par NIV, ZEA, T-2 et HT-2 (Cheli et al., 2013). L'une des larges épidémies de mycotoxicose causée par la consommation du blé en 1991 a affecté environ 130000 personnes dans la province d'Anhui en Chine. Des échantillons de blé ont été collectés durant cette épidémie contenant la DON avec des quantités qui varient entre 2 à 50 mg/kg. En 1987, une épidémie causée par les trichothécènes (TCN) en Kachmir a été liée au pain fait à partir du blé moisi endommagé par la pluie. La toxine T-2 et la DON ont été détectées dans le blé et le blé raffiné (Stein et Bulboca, 2017). En Espagne, Rubert et al. (2011) ont constaté que 20 % des échantillons du blé ont été contaminés par la DON (Khaneghah et al., 2019). En Serbie, 28% des échantillons

ont été contaminés par la DON et 6% par HT-2 (Skrbic et al., 2011). 189 échantillons de blé ont été analysés par HPLC en Slovaquie. La DON, qui a été la mycotoxine la plus dominante dans la saison 2009/2011 avec des concentrations variant entre 20 à 2651,79 µg/kg, a été détectée dans 85% des échantillons et a excédé la limite européenne dans 4 échantillons seulement, alors que la ZEA a été détectée dans 65% et NIV dans 63% des échantillons avec des concentrations qui n'ont pas dépassé la réglementation européenne (Remza et al., 2014). En Roumanie, l'évaluation de 10 mycotoxines dans 102 échantillons du blé collecté dans la saison 2015 a été faite avec GC-MS/MS. Uniquement la DON et ses dérivés acétylés, NIV, HT-2 et ZEA ont été détectés, avec la présence simultanée des 4 TCT du groupe A. DAS, F-X, NEO et T-2 n'ont pas été détectés (Stanciu et al., 2019). En Asie, la ZEA (incidence minimale à 15%) a été détectée à un niveau haut modéré (soit 3049 µg/kg) dans les échantillons de blé (Khaneghah et al., 2019). Au Kenya, Wagacha et al. (2010) ont analysé 26 échantillons avec LC-MS/MS et ont détecté la présence de HT-2 (124-139 µg/kg), F-X (14-292 µg/kg), NEO (20-51 µg/kg), NIV (25-60 µg/kg) et DON (25-1310 µg/kg) tandis que Geary et al. ont détecté DON et T-2 après analyse de 80 échantillons par ELISA avec des valeurs variant de 105-303 et 20-66 µg/kg, respectivement (Chilaka et al., 2017).

En plus des toxines du *Fusarium*, les AFs et l'OTA sont aussi des contaminants communs du blé. Plusieurs chercheurs ont montré la dominance d'*Aspergillus* section *Nigri* et *Flavi* du mycobiote du blé et ses produits dérivés. A titre d'exemple, il a été prouvé que l'incidence moyenne des *A. flavus* aflatoxinogènes dans le blé est de 13% (Lavkor et al., 2019).

En Arabie Saoudite, *Aspergillus* a été le genre le plus dominant dans les échantillons de la farine (70%), suivi par *Penicillium* (30%) puis *Fusarium* (20%) (Gashgari et al., 2010). Un total de 141 échantillons a été collecté à partir de 11 régions de la Turquie : AF et OTA ont été détectées dans 2% et 9,2% des échantillons à des concentrations variant de 0,21 à 0,44 µg/kg et de 0,1 à 3,2 %, respectivement, avec AFB₁ et AFB₂ dont les concentrations variaient entre 0,21 à 0,35 µg/kg et 0,094µg/kg, respectivement et absence d'AFG (Turksoy et Kabak, 2020). Une étude sur des céréales, dont le blé dur et le blé rouge du printemps, qui ont été stockées pendant des durées variées par multiples compagnies commerciales dans le nord-ouest et le nord de la région des Grandes Plaines dans les Etats-Unis a révélé la présence d'OTA dans environ 12% des échantillons, et 81% de ces échantillons ont été stockés pendant 6 mois ou plus (Stein et Bulboca, 2017). 29 (58%) des échantillons de blé en Inde ont été contaminés avec des quantités détectables par HPLC d'OTA variant entre 1,36 à 21,17 µg/kg y compris 13 (26%) des échantillons dépassant la limite suggérée par l'Union Européenne (Kumar et al., 2012). Au Liban, 156 échantillons de blé ont été analysés par HPLC couplé à un détecteur de fluorescence. Les résultats ont montré que 23,7% ont été contaminé par OTA, à une concentration de plus de 3 µg/kg, et 35,2% ont été contaminé avec AFB₁ à des concentrations de plus de 2 µg/kg (Joubrane et al., 2011). Au Pakistan, 20% des échantillons du blé ont été contaminés par les AFs avec une concentration moyenne de 6,6 µg/kg (Lutfullah et Hussain, 2012). En Ethiopie, Ayalew et al. (2006) ont analysé 120 échantillons du blé par HPLC et ont trouvé 5 grains contaminés par AFB₁. En Inde, l'analyse de 1646 échantillons par ELISA en 2006 a donné la contamination de 663 grains par AFB₁ selon Torteja et al., et une étude en Malaisie par Reddy et al. (2001) sur la même mycotoxine dans 14 grains a donné après

analyse par ELISA la contamination de 9 graines (Filazi et Sireli, 2013). Ces résultats montrent clairement la divergence de la contamination entre les pays développés et sous-développés.

Concernant la variance de la contamination selon le climat, Rodriguez et Neahrer (2012) ont étudié et dosé les AFs, OTA et les mycotoxines du *Fusarium* dans le blé et le son de blé dans les différents continents du monde. Ils ont constaté que : DON est plus présente en Europe centrale (jusqu'à 7341 µg/kg) qu'en Amérique du sud (2520 µg/kg au maximum), ZEA beaucoup plus en Amérique du nord (un maximum de 11050 µg/kg) qu'en Amérique du sud (valeur maximale de 210 µg/kg), le continent qui a la fréquence la plus élevée de FUM est l'Amérique du sud (jusqu'à 1715 µg/kg) tandis que la contamination par cette mycotoxine dans les pays nordiques de l'Europe et l'Amérique du nord est nulle, les AFs sont plus fréquentes en Asie (jusqu'à 20 µg/kg) et nulles dans les pays nordiques, les OTA ont leur prévalence maximale (presque 100% des échantillons) dans l'Europe centrale (Cheli et al., 2013). En Europe, plusieurs chercheurs ont démontré que le blé au nord est plus contaminé par les mycotoxines du *Fusarium*, notamment DON, par rapport à celui du sud bien que les taux les plus élevés de T-2 ont été repérés aux pays plus chauds comme l'Italie, la France et le Portugal (Logrieto et Moretti, 2008). Les niveaux de 26 mycotoxines ont été déterminés (par HPLC-MS/MS) dans 99 échantillons de 9 variétés du blé de l'hiver cultivées dans 5 régions de la Pologne durant la saison 2014 avec l'identification des mycotoxines du *Fusarium* comme contaminants majeurs. Le blé cultivé dans la région du sud-est a été le plus contaminé par rapport à celui cultivé dans les régions nord/ouest de la Pologne probablement à cause des conditions climatiques non favorables (pluviosité considérable et haute température). DON a été trouvée dans 100% des échantillons en plus de ZEA, les métabolites de DON et les ENNs qui ont été aussi trouvés fréquemment (Bryla et al., 2016). Dans l'étude de Remza et al. (2014), une différence significative de l'incidence de DON dans les 3 régions étudiée a été observée, probablement à cause des conditions climatiques, ainsi que les teneurs de DON ont été moins importantes en 2009 (année la plus sèche) par rapport à 2010 et 2011. Stanciu et al. (2019) ont constaté que les périodes de pluviosité à la fin de floraison, la sécheresse durant la formation des graines ou l'humidité élevée vers la fin du stade de pré récolte sont favorables, notamment pour la présence de DON, HT-2 et ZEA et la cooccurrence de DON et ZEA dans le blé. Selon Janhager (2018), la teneur du DON dans le blé suédois a augmenté de 15 µg/kg en 1994 à environ 100 µg/kg à cause du réchauffement climatique.

Les données sur l'occurrence des mycotoxines du *Fusarium* dans le blé dur sont limitées. Les données disponibles indiquent que le blé dur a été souvent plus contaminé que le blé commun, mais, à l'exception de quelques échantillons, aucun échantillon de blé dur n'a été non conforme à la réglementation européenne pour DON et ZEA (Cheli et al., 2013). Une étude a été effectuée en Argentine pour déterminer les espèces du *Fusarium* et la contamination par les fumonisines dans 55 échantillons du blé dur collectés durant les saisons 2007 et 2008 en utilisant HPLC et une confirmation par LC-MS/MS. Tous les échantillons ont été contaminés par *Fusarium* avec des niveaux de contamination qui varient entre 8 à 66%, *F.proliferatum* étant l'espèce la plus abondante en 2007 et la 2^{ème} plus abondante en 2008, respectivement. La contamination naturelle par les FUM a été constatée dans les 2 saisons. En 2007, 97 % des échantillons ont montré des valeurs de (FB₁ +

FB₂) qui varient entre 10,5 à 1245,7 µg/kg, alors que de petites quantités ont été détectées durant la saison 2008. Ceci peut être expliqué par les différences dans la pluviosité dans les 2 saisons (2008 a été plus sèche). En 2007, le rapport FB₂/FB₁ a varié entre 0,1 à 2,3, avec 4 échantillons plus de FB₂ que FB₁. 3 échantillons ont été contaminés par FB₁ seulement, et 5 échantillons ont montré une prévalence similaire. En 2008, la détection par HPLC n'a montré aucune contamination par FUM, mais l'analyse par LC-MS/MS a conclu que 6 échantillons avaient des traces de cette mycotoxine (Palacios et al., 2011). Cette étude a mis l'accent sur la différence de sensibilité entre les deux techniques.

Bien qu'elles résistent aux procédés thermiques lors des transformations industrielles, les mycotoxines tendent à être concentrées dans les fractions extérieures qui sont utilisées dans l'alimentation animale comme le son, et réduites dans les fractions intérieures comme la farine et la semoule destinée à la consommation humaine (Janic Hajnal et al., 2019). En Turquie, aucun échantillon de farine parmi les 69 échantillons étudiés par Kara et al. (2015) n'a été contaminé par AFB₁ (Ismail et al., 2019). 67 échantillons de son destiné à l'alimentation humaine ont été collectés à partir des magasins dans 2 villes espagnoles différentes et analysés, dont 37 échantillons de son de blé. Seulement 10 échantillons ne portaient aucune mycotoxine. Les résultats ont montré la présence majeure de DON, avec des valeurs qui dépassent la réglementation européenne dans quelques échantillons sachant que la fréquence a été plus importante dans les échantillons du blé par rapport à ceux de l'avoine. Les échantillons qui ont été soumis à un traitement thermique ont présenté des valeurs significativement plus basses en OTA, en parallèle les produits bio avaient une teneur plus haute en cette mycotoxine. La cooccurrence a été fréquemment trouvée entre les mycotoxines du *Fusarium* (ZEA et DON). Les AFs n'ont pas été détectées (Vidal et al., 2013). Cette étude pose la problématique de la consommation du son de blé et des produits bio qui bien qu'elle soit bénéfique pour la santé en termes de l'amélioration du transit et l'absence de produits chimique, elle peut exposer le consommateur à des teneurs élevées en mycotoxines. Dans une autre étude en Espagne, l'analyse des céréales du déjeuner à base du blé par GC-MS/MS a montré que les mycotoxines les plus fréquentes dans ces produits ont été : DON, HT-2 et NIV avec des incidences globales de 79,8%, 16,8% et 13,4% respectivement mais, contrairement à l'étude précédente, les produits conventionnels et bio avaient une occurrence similaire des mycotoxines (Rodriguez-Carrasco et al., 2013). En Ethiopie, Gerermew et al. (2018) a effectué une étude sur 30 échantillons de farine et a montré par HPLC la présence d'OTA dans 50% de ces échantillons (WMJ, 2018).

La cooccurrence des mycotoxines a été reportée par plusieurs études. Il y a eu cooccurrence de BEA et de ENN dans du blé finnois ainsi que des échantillons collectées durant la saison 2001/2002 en Norvège (Logrieto et Moretti, 2008). Dans l'étude de Skrbic et al. (2011), une cooccurrence a été observée de HT-2 avec DON dans 2 échantillons, dans l'un d'eux HT-2 a été plus abondant que DON (3 fois), tandis que dans l'autre HT-2 a été légèrement moins abondant que DON. Selon Remza et al. (2014), une cooccurrence fréquente de NIV et DON a été constatée. 12% des échantillons ont été contaminés par DON + ZEA, et 7% par ZEA + DON + NIV.

Au Maghreb, les premières données relatives aux champignons toxigènes isolés à partir des dérivés de graines au Maroc remontent aux années 70, mais seulement les espèces du genre *Aspergillus* susceptibles de produire les AFs sont prises en considération. Parmi 40 souches isolées à partir de la farine du blé, les pâtes et le couscous, 13 ont été toxigènes. En 2006, Hajjaji *et al.* ont constaté la contamination de 12% des échantillons par OTA et 19% par DON. En 2007, Zinedine *et al.* ont constaté que les concentrations des OTA dans 100 échantillons du pain de différentes villes dépassent les limites tolérables pour un adulte de 60 kg ce qui pourrait contribuer dans la recrudescence des néphropathies au Maroc, mais ils ont reconnu que cette hypothèse doit être confirmée avec précision avec des études épidémiologiques. Plus tard, Zinedine *et al.* (2011) ont cherché les mycotoxines émergentes dans 25 échantillons de blé : Les ENNs totales ont été détectées dans 12 échantillons avec 163 mg/kg au moyenne et 273 au maximum et BEA dans 7 échantillons avec une moyenne de 2 mg/kg et un maximum de 4 mg/kg. Parmi 47 échantillons de blé dur, Ennouari *et al.* (2012) ont trouvé 9 échantillons contaminés par DON avec une valeur moyenne de 502 et une valeur maximale de 1310 µg/kg. En 2016, Bouafifsa *et al.* ont détecté DON dans 40,5% des échantillons des pâtes. Zinedine *et al.* (2017) ont étudié 86 échantillons du couscous et ont trouvé que la grande majorité de ces échantillons ont été contaminés par au moins une mycotoxine des 22 mycotoxines produites par les genres *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* et que les ENNs et ZEA ont montré les fréquences les plus élevées (Tantaoui-Elaraki *et al.*, 2018).

En Tunisie, Ghali *et al.* (2008) ont reporté la contamination du blé et ses dérivés par les AFs totales, AFB₁ et OTA avec des valeurs moyennes de 6,7 µg/kg, 2,2 µg/kg et 2,9 µg/kg respectivement. Ben Sassi *et al.* (2010) ont reporté la présence de DON dans 54 parmi 65 échantillons de blé avec un niveau maximal de 30,5 µg/kg (dépassant la limite européenne). ZEA a été trouvé dans 75% des échantillons dans l'étude de Zaied *et al.* (2012) avec une concentration qui a atteint 560 µg/kg (moyenne : 60 µg/kg) (Tantaoui-Elaraki *et al.*, 2018). Dans une étude récente, le blé analysé a été contaminé par *Aspergillus* (54,17%) et *Penicillium* (41,67%) parmi d'autres. Les fréquences de contamination avec *Aspergillus*, *Fusarium* et *Alternaria* ont été plus élevées dans les échantillons fraîchement récoltés alors que *Penicillium* a été plus fréquent dans les échantillons stockés (Jedidi *et al.*, 2018).

En Algérie, 85 échantillons ont été collectés à partir de 2 régions (Tizi-Ouzou et Sétif) pendant la pré-récolte, le stockage dans les silos et après traitement. La capacité ochratoxinogène de 135 isolats appartenant à 11 espèces d'*Aspergillus* et 23 isolats de *Penicillium sp.* a été analysée par HPLC couplé à la fluorescence : 51 isolats (32,3%) ont été ochratoxinogènes. OTA a été détectée dans 12 (40%) des échantillons avec des valeurs variant entre 0,21 et 41,55 µg/kg (Riba *et al.*, 2008). Deux ans après, un total de 108 échantillons de blé ont été collectés durant les phases suivantes : pré-récolte, stockage dans les silos et après transformation. AFB₁ a été détectée par HPLC dans 56,6% des échantillons du blé et ses produits dérivés (farine, semoule et son) avec des niveaux de contamination allant de 0,13 à 37,42 µg/kg (Riba *et al.*, 2010). En 2016, l'étude de Riba *et al.* a montré que le blé et ses dérivés en Algérie sont hautement contaminés par OTA : Le blé (69,2%), la farine et dérivés (100%) et la semouline et dérivés (75,9%) avec 50% des échantillons positifs qui ont dépassé les limites européennes. Ces résultats attestent que la contamination dans la

saison 2012/2013 est plus élevée que les saisons reportées précédemment (Tantaoui-Elaraki et *al.*, 2018). Dans une autre étude, 39 échantillons du blé ont été analysés par HPLC : 27 échantillons ont été contaminés par OTA avec des valeurs variant entre 0,21 à 27,31 µg/kg, avec des fréquences de contamination de 74 et 58,33% pour le blé dur et le blé tendre, respectivement. Parmi les échantillons positifs, 13 (48,14%) ont dépassé la limite européenne. Les niveaux les plus élevés ont été détectés dans le blé dur (27,31 µg/kg) et le blé tendre (14,74 µg/kg) de Médéa et Tiaret, respectivement. L'incidence de contamination a aussi été élevée dans ces 2 régions (100% pour Tiaret et 83,3% pour Médéa). Par contre, les concentrations à Sétif ont varié entre 1,36 à 2,9 µg/kg. Ces résultats peuvent être dus aux conditions climatiques (des températures et une humidité élevées), aux mauvaises conditions du stockage ainsi que l'absence de bonnes pratiques agricoles. Les produits dérivés collectés à partir des meuneries de M'Sila ont aussi été analysés : Les dérivés du blé dur (semoule grossière, semoule fine, semoule extra fine, farine du blé dur et son du blé dur avec des valeurs moyennes de 4,19 ; 8,2 ; 2,425 ; 4,07 ; 7,16 µg/kg respectivement) ainsi que les dérivés du blé tendre (la farine et le son du blé tendre avec des valeurs moyennes de 9,49 et 11,32 µg/kg respectivement) (Zebiri et *al.*, 2018). Dans l'étude la plus récente faite en 2020, Mahdjoubi et *al.* ont analysé 120 échantillons des céréales dont 30 échantillons du blé par LC-MS/MS : 100% des échantillons ont été contaminés par T-2 (16,6-47,2 µg/kg), 23% par HT-2 (8,4-36,7 µg/kg) sachant que cette mycotoxine n'a été présente que dans le blé, 90% par DON (68,3-1363 µg/kg), 10% par F-X (193-159 µg/kg), 63,3% par ZEA (9,6-259 µg/kg), 23,3% par ENNA (8,4-87,6 µg/kg), 46,7% par ENNA₁ (4,0-395 µg/kg), 60% par ENNB (1,2-5288 µg/kg), 70% par ENNB₁ (19,5-4569 µg/kg), 70% par BEA (2,8-486 µg/kg) tandis que FUM et OTA n'ont pas été détectées. Tous ces échantillons ont été contaminés par plus qu'une mycotoxine. La cooccurrence la plus fréquente a été 8 mycotoxines. La combinaison la plus fréquente : (DON + T-2 + ZEA + ENNA₁ + ENNB + ENNB₁). Le nombre le plus élevé des mycotoxines présentes simultanément a été 9 dans 1 échantillon. Ces résultats prouvent que des démarches législatives doivent être adoptées en urgence pour protéger le consommateur algérien.

2.2 Cas du maïs

Le maïs est une source alimentaire importante pour la plupart de la population du monde. Il est classé le deuxième après le blé parmi les cultures céréalières consommées (Deabes et *al.*, 2018). Le maïs est généralement contaminé par des mycotoxines provenant de champignons, ce qui peut avoir un impact sur la santé des humains consommant des denrées alimentaires à base de maïs. Les mycotoxines les plus importantes présentes dans le monde dans la filière maïs sont les aflatoxines, les fumonisines, les trichothécènes (en particulier le déoxynivalénol) et la zéaralénone (Tableau 13). Ces composés sont produits par des espèces fongiques des genres *Aspergillus* et *Fusarium*. Les espèces de *Penicillium* produisent également des mycotoxines qui peuvent être présentes dans le maïs (Munkvold et *al.*, 2019). D'après Deabes et *al.* (2018) le maïs est souvent envahi avant la récolte par *A. flavus* et *A. parasiticus* qui produisent des mycotoxines. Un stockage inapproprié de maïs frais dans des conditions chaudes et humides était la principale cause de contamination par les aflatoxines (Shabani-Gholami et *al.*, 2017) mais elle est également le plus souvent associées à une

infection fongique qui survient avant la récolte au point de vue de Deabes et *al.* (2018), ainsi que les dommages mécaniques et dommages causés par les insectes / oiseaux (Nairobi, 2011).

➤ Dans le monde

Dans une étude récente, 43 isolats d'*A.flavus* ont été identifiés à partir de cultures fongiques précédemment isolées du maïs dans différentes régions au Kenya (Makueni, Nyeri, Bungoma et Uasin Gishu). L'aflatoxine a été détectée dans 23% des isolats par criblage par fluorescence UV et dans 30% par chromatographie sur couche mince (CCM). Les aflatoxines produites étaient : l'aflatoxine B₁ (AFB₁), l'aflatoxine B₂ (AFB₂) et l'aflatoxine G₁ (AFG₁) ; certains isolats ne produisaient que AFB₁, tandis que d'autres produisaient soit AFB₁ et AFB₂, soit AFB₁ et AFG₁. La diversité des conditions environnementales au Kenya a conduit à une incidence différenciée de la contamination du maïs par *Aspergillus flavus* (tableau 14) (Thathana et *al.*, 2017). En 2010, 2,3 millions de sacs de maïs cultivés dans les régions est et ouest du Kenya ont été déclarés comme étant impropre à la consommation humaine en raison de niveaux élevés de contamination par les aflatoxines (Nairobi, 2011). La répartition des isolats d'*A. Flavus* aflatoxinogènes et non aflatoxinogènes dans quatre régions de culture du maïs du Kenya est présentée dans la figure 12.

Sur les 27 isolats de Makueni, 12 (28%) étaient aflatoxinogènes et 15 (35%) non aflatoxinogènes. L'aflatoxine n'a pas été détectée dans tous les isolats d'*A. flavus* identifiés à Uasin Gishu et Nyeri. Un seul (2%) des isolats identifiés à partir de Bungoma présentait une capacité de production d'aflatoxine, et quatre (9%) ont été testés négatifs.

Bien que l'aflatoxine est le contaminant principal du maïs au Kenya, nombreux autres pays du monde : l'Afrique du sud, la Chine, dans le nord-est de l'Italie, dans le sud-est des États-Unis, et surtout en ASS (où le maïs est la principale céréale consommée quotidiennement par la plupart de la population dont la consommation journalière moyenne de maïs par adulte peut atteindre 500 g) (Tableau 15), considèrent le FB comme étant le contaminant majeur du maïs (et ses produits) en raison de leur sensibilité aux champignons producteurs de FB (Chilaka et *al.*, 2017).

De nombreuses études sur la contamination du maïs par les mycotoxines ont été faites en Iran, leurs résultats indiquent que les principales mycotoxines présentes dans le maïs sont : AFB₁, AFB₂, aucun des échantillons du maïs ne contient des quantités détectables d'aflatoxines G₁ et G₂. Un seul des échantillons contaminés par l'AF a été co-contaminé avec de l'ochratoxine (Shabani-Gholami et *al.*, 2017) ainsi que, les aflatoxines contaminent fréquemment les grains de maïs en Zambie à cause d'une infection des cultures par un ou plusieurs espèce de la section *Aspergillus Flavi* (Kachapulula et *al.*, 2017). En plus de la possibilité de contamination du maïs par des aflatoxines ainsi que d'autres toxines en différentes quantités, le CPA est un autre métabolite secondaire toxique produit par *A. flavus* en Egypte (Deabes et *al.*, 2018).

Une autre étude a été faite pour déterminer l'incidence des champignons toxigènes et les mycotoxines produites dans le maïs de différentes régions agro climatiques de l'Inde. Un total de 288 isolats fongiques (comprenant des espèces *Fusarium*, *Aspergillus* et *Penicillium* qui ont été récupérés à partir des 150 échantillons de maïs) ont été testés pour AFB₁, OTA, les trichothécènes

(DON et la toxine T-2) et FB₁. Les résultats sont résumés dans le tableau 16 (Mudili et *al.*, 2014). Parmi les espèces de genre *Aspergillus* qui ont été fortement présentes dans le maïs indien est celle d'*A. flavus* (Filazi et Sireli, 2013).

➤ Dans le Maghreb

Les trois pays d'Afrique du Nord, le Maroc, l'Algérie et la Tunisie, sont géographiquement situés dans la région du Maghreb. Leur climat est caractérisé par des températures et une humidité relative élevées dans certaines régions, qui sont les conditions environnementales favorables à une croissance fongique rapide et à la toxinogenèse par les mycotoxines (en particulier d'aflatoxines et d'ochratoxine A) et de mycotoxines fusariennes émergentes (enniatines et beauvéricine) dans certaines céréales qui sont largement consommés en Afrique du Nord, en particulier dans le maïs.

De nombreuses études ont été menées sur la production de mycotoxines dans le maïs des trois pays d'Afrique du Nord. Un travail a porté sur la contamination de maïs marocain par les champignons d'*Aspergillus*. Des champignons du genre *Aspergillus* étaient présents dans tous les échantillons avec une prédominance d'*A. flavus* suivi d'*A. zonatus*. Seuls ces derniers étaient capables de produire des AFs parmi l'ensemble d'espèces d'*Aspergillus* qui ont été identifiés dans le maïs marocain. Dans un autre travail sur la production de mycotoxines dans différentes céréales et produits dérivés étudiés dans les trois pays d'Afrique du Nord, l'AFB₁ a été trouvée dans un seul échantillon du maïs marocain sur les 50 analysés. Dans un autre travail qui a porté sur la contamination par l'OTA, il s'avère que 8 échantillons du maïs marocain sur les 20 analysés ont été contaminés par l'OTA. Une autre recherche a été portée sur les mycotoxines émergentes dans le maïs au Maroc. Le nombre d'échantillons positifs pour les ENN, FUS et BEA était de 13, 1, 6 échantillons parmi les 31 analysés respectivement. Le maïs marocain a été également contaminé par ZEA et FB₁ (Tantaoui-Elaraki, et *al.*, 2018).

Les caractéristiques sociales et économiques de la population tunisienne tel que le stockage des aliments dans les conditions domestiques peuvent augmenter la croissance des moisissures et leur production de métabolites secondaires. Les genres *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. niger* suivi par *A. parasiticus* à une faible fréquence) et *Penicillium* (à des valeurs bien inférieures que celui de l'*Aspergillus*) ont été considérés parmi les genres prédominant dans le maïs tunisien. Cela a suggéré la possibilité de l'apparition de leurs mycotoxines (essentiellement des AFs et, dans une moindre mesure, de l'OTA). Le genre *Fusarium* a été également détecté dans les échantillons du maïs stockés et récoltés où il est identifié comme *F. verticillioides* qui est un producteur de fumonisines. Les fréquences de contamination par *Aspergillus* et *Fusarium* étaient plus élevée dans les échantillons du maïs fraîchement récoltés, tandis que les espèces de *Penicillium* étaient plus fréquentes dans les échantillons stockés (Jedidi et *al.*, 2018). Une autre étude a confirmé que les aflatoxines (AFB₁+ AFB₂+ AFG₁+ AFG₂) ont été considérés parmi les principales toxines contaminants le maïs tunisien (Filazi et Sireli, 2013).

Une étude sur 30 échantillons du maïs destinés à la consommation humaine achetés au hasard sur différents marchés locaux dans trois zones de la région ouest de l'Algérie (Aint

Temouchent, Oran et Tiaret), a été menée pour la présence de mycotoxines (OTA, DON, FB₁, FB₂, T-2, HT-2, ZEA, F-X, CIT, STE, ENNA, ENNA₁, ENNB, ENNB₁ et BEA) (Mahdjoubi et al., 2020). En ce qui concerne la distribution des trichothécènes étudiées (HT-2, T-2, DON et F-X), la T-2 était le plus fréquemment trouvée, étant présente dans 100% d'échantillons du maïs à des concentrations allant de 16,6 à 47,2 µg / kg. La DON a été trouvée dans 13 échantillons du maïs (43,3%), avec une concentration moyenne d'échantillons positifs de 632 µg / kg. La concentration la plus élevée trouvée pour la DON était de 2 055 µg / kg, pour un échantillon du maïs qui dépassait la concentration maximale autorisée établie par l'UE (1 750 µg / kg). Le F-X a été déterminé dans 24 échantillons du maïs (80%). Un échantillon du maïs a montré une teneur maximale en F-X (477 µg / kg). La ZEA a été trouvée dans 7 échantillons du maïs (23,3%), soit la concentration moyenne d'échantillons positifs 109 µg / kg. Un échantillon du maïs (avec une concentration de 579 µg / kg) a dépassé les niveaux maximaux autorisés établis par l'UE pour le ZEA (350 µg / kg). FB₁ et FB₂ ont été trouvées dans des échantillons du maïs, avec des concentrations et un taux d'incidence élevés. Ainsi, la FB₁ était présente dans 29 échantillons (96,6%) à des concentrations allant de 289 à 42 143 µg / kg, tandis que la FB₂ était quantifiée dans 27 échantillons (90%) à des concentrations de 27,5 à 8 603 µg / kg. Les concentrations moyennes pour les échantillons positifs étaient de 14 812 et 2 789 µg / kg pour FB₁ et FB₂, respectivement. Compte tenu de la somme des fumonisines (FB₁ + FB₂), elle était comprise entre 289 et 48 878 µg / kg. Au total, 21 échantillons (70%) ont montré des concentrations de (FB₁ + FB₂) supérieures au niveau maximal autorisé établi par l'UE (4 000 µg / kg pour le maïs non transformé) suggérant une forte exposition de la population à ces toxines. La CIT était présente dans 25 (83,3%) échantillons du maïs, avec un niveau moyen de 32,7 µg / kg. La concentration la plus élevée de CIT a été trouvée dans un échantillon du maïs (273 µg / kg). Le maïs Algérien a été également contaminé par le BEA et les ENN, des mycotoxines émergentes. L'ENNB₁ a été trouvé dans 2 échantillons (6,6%) du maïs avec une concentration de 15,0 à 107 µg / kg. L'ENNA₁ a été quantifié dans 3 échantillons (10%) du maïs, avec une concentration moyenne pour les échantillons positifs de 56,4 µg / kg. Concernant la BEA, 25 échantillons (83,3%) du maïs étaient positifs, avec des concentrations comprises entre 0,85–31,4 µg / kg. L'ENNA et l'ENNB n'ont pas été détectés dans le maïs. En outre, tous les échantillons du maïs se sont révélés contaminés par plus d'une mycotoxine. La cooccurrence la plus fréquente était la combinaison de 5 mycotoxines. De plus, différentes combinaisons ont été observées dont, les plus fréquentes étant : (FB₁ + FB₂ + T-2 + F-X + CIT + BEA) et (FB₁ + FB₂ + T-2 + F-X + BEA). Le nombre le plus élevé de mycotoxines survenant simultanément était de neuf dans 2 échantillons du maïs (DON + FB₁ + FB₂ + T-2 + ZEA + F-X + CIT + BEA + ENNA₁) (Mahdjoubi et al., 2020).

Tableau 13. Les principales mycotoxines présentes dans le maïs (Mahdjoubi et *al.*, 2020).

Denrée	Maïs
Mycotoxines	AF, AFB ₁
	Fumonisins (B ₁ +B ₂), (B ₁ + B ₂ + B ₃)
	Déoxynivalénol
	Zéaralénone
	T-2 + HT-2

AF : la somme des aflatoxines B₁+B₂+G₁+G₂.

Tableau 14. L'influence du climat sur l'incidence des *A. flavus* dans le maïs de différentes régions au Kenya (Thathana et *al.*, 2017).

Régions	Climat	Proportion d'incidence d' <i>A. flavus</i>
Makueni	semi-aride	(63%)
Uasin Gishu	Humide	(21%)
Bungoma	Sous-humide	(11%)
Nyeri	Humide	(5%)

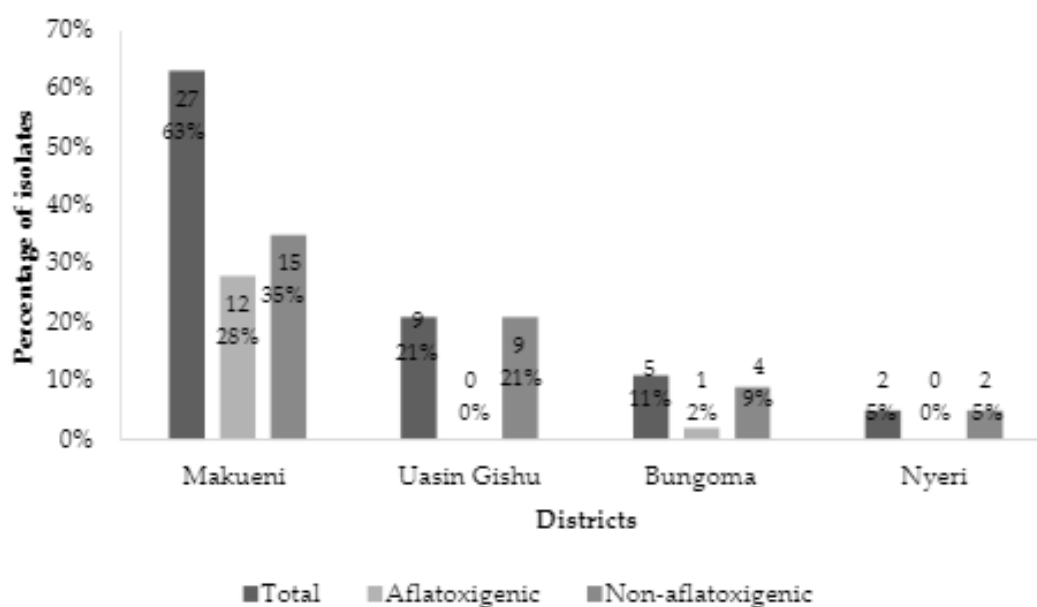


Figure 12. La répartition d'*A. Flavus* et la production des aflatoxines dans quatre régions de culture de maïs au Kenya (Thathana et *al.*, 2017).

Tableau 15. La répartition des fumonisines en Afrique subsaharienne dans le maïs (Chilaka et *al.*, 2017).

Pays	Types de Fumonisine
Burkina Faso	FB ₁ , FB ₂ , ou FB ₁ +FB ₂
Ethiopie	FB
Mozambique	FB ₁ , FB ₂ , FB ₃
Nigeria	FB ₁ , FB ₂ , FB ₃ , ou FB
Afrique du Sud	FB ₁ , FB ₂ , ou FB
Tanzanie	FB ₁ , FB ₂ , ou FB ₁ + FB ₂
Zambie	FB

FB = fumonisine B ; \sum FB = la somme de FB₁, B₂, et B₃.

Tableau 16. L'incidence des champignons toxigènes et les mycotoxines produites dans le maïs indien (Mudili et *al.*, 2014).

Nombres d'isolats fongiques positifs (<i>Fus</i> , <i>Asp</i> , et <i>Pen</i>)	Type de toxine produit
28	AFB1
20	OTA
58	FB1
23	DON
11	T-2

2.3 Cas du riz

Comme le maïs, le riz est considéré également un aliment de base (Filazi et Sireli, 2013) et l'une des céréales les plus consommées dans le monde (Arroyo-Manzanares et *al.*, 2014). Le riz est la deuxième céréale la plus produite au monde derrière le blé (Lutfullah et Hussain, 2012). En 2018, la production mondiale du riz a augmenté de 1,5% à 778,6 millions de tonnes (FAO, 2018). Le riz brun et le riz rouge (obtenu par fermentation de riz normal avec des champignons du genre *Monascus*) sont deux variétés du riz plus en plus choisies par les clients en raison de leurs bienfaits pour la santé (Arroyo-Manzanares et *al.*, 2014). La présence de champignons mycotoxinogènes et de mycotoxines dans le riz a été signalée dans plusieurs pays, en particulier *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* produisant des aflatoxines (AFs), ochratoxine A (OTA) et déoxynivalénol (DON) (Bertuzzi et *al.*, 2019) il s'agit donc d'une matrice préoccupante dans la détermination des mycotoxines (Arroyo-Manzanares et *al.*, 2014).

➤ Dans le monde

Les informations sur la contamination du riz par les mycotoxines en Afrique sont limitées bien que le risque de contamination soit élevé (Tang et *al.*, 2019). Les pratiques agricoles sous optimales (rudimentaires et manuelles) qui ont été employées aux stades avant et après récolte du riz (Kebede et *al.*, 2020), ainsi que les conditions de stockage inappropriées ont été les principaux facteurs augmentant le taux de contamination et de prolifération fongiques en ASS, surtout dans les régions tropicales humides. Des contaminants importants présents dans le riz blanchi au SSA comprennent les genres *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* produisant différentes mycotoxines AF, FUM et ZEA. D'après le même rapport, les occurrences d'ochratoxine A et de ZEA étaient les plus élevées dans le riz d'Afrique tandis que la déoxynivalénol dans le riz venait en troisième position derrière le blé et le maïs. La plupart des données ont été collectées sur des cultures vivrières stockées et commercialisées en Côte d'Ivoire, au Nigeria, en Tunisie, au Kenya, au Cameroun, au Malawi et au Maroc (Tang et *al.*, 2019). D'après Filazi et Sireli, (2013), le riz était significativement plus fortement colonisé par *Aspergillus spp*, producteur d'aflatoxines dans de nombreux pays (tableau 17). Ainsi, sur la base de la fréquence de consommation, la majeure partie de la consommation d'aflatoxines par l'homme se fait par le riz, et par conséquent, l'apport total d'aflatoxines provenant de ce produit serait plus élevé que tout autre produit alimentaire (Ismail et *al.*, 2019).

Une étude sur l'incidence de l'OTA dans les céréales a démontré la présence des concentrations de l'OTA sur des échantillons à base du riz (7/16) qui proviennent de différents marchés et supermarchés aux États-Unis (Nguyen et Ryu, 2014).

Une autre étude sur 159 échantillons à base de céréales a été menée en Espagne. En ce qui concerne les céréales à base du riz, 23 échantillons au total ont été analysés. La DON était la mycotoxine la plus fréquemment détectée (Rodriguez-Carrasco et *al.*, 2013). On outre, l'incidence de l'AFB₁ dans le riz (rouge) espagnol a été confirmée (Arroyo-Manzanares et *al.*, 2014).

La présence d'aflatoxines dans certaines céréales au Pakistan a été étudiée. Les résultats ont montré le pourcentage de contamination pour les aflatoxines totales dans 95 échantillons analysés,

dont 5 échantillons (25%) du riz et 3 échantillons (15%) du riz brisé ont été trouvés contaminés par des aflatoxines. Parmi tous les échantillons contaminés, deux riz, un riz brisé, dépassaient la limite suggérée pour les aflatoxines totales (4 mg / kg), défini par les réglementations de l'UE (Lutfullah et Hussain, 2012).

Les champignons mycotoxigéniques et la contamination relative par les mycotoxines ont été surveillés dans des échantillons du riz paddy italien à la fois sur le terrain pendant la saison de croissance et les cinq premiers mois de stockage. *Fusarium spp.* et *Aspergillus spp.* sont les champignons les plus susceptibles de produire des mycotoxines tout au long de la saison de croissance. En particulier, *A. flavus* et *A. niger* n'ont été trouvés que rarement à la fois au champ et après la récolte, tandis que *A. versicolor* était toujours présent bien qu'à de faibles concentrations. Il s'est avéré que le genre *Penicillium spp.* n'est pas pertinent dans la contamination fongique du riz italien. La stérigmatocystine (STC), une mycotoxine émergente, était la principale mycotoxine trouvée dans le riz italien, tandis que l'aflatoxine (AFB₁), la déoxynivalénol (DON) et l'ochratoxine A (OTA) étaient rarement détectés. La contamination a généralement augmenté de la post-floraison à la maturation. Pendant le stockage, une augmentation de la teneur en STC a été observée dans des gammes de températures plus élevées, tandis que toutes les autres mycotoxines considérées sont restées inchangées (Bertuzzi et al., 2019).

➤ Dans le Maghreb

Les niveaux les plus élevés d'OTA dans les céréales au Maroc ont été signalés dans le riz avec 47 µg / kg dans une enquête où 26 échantillons se sont révélés contaminés parmi 100 analysés. De plus, des ENNs ont été détectées dans 35 des 70 échantillons analysés du riz marocain, avec 119,5, 448,7, 26,2 et 23,7 mg / kg comme quantités maximales pour ENN A, ENN A₁, ENN B et ENN B₁, respectivement (Tantaoui-Elaraki et al., 2018).

L'incidence de l'OTA était de 28% dans le riz tunisien, avec un niveau moyen de 950 µg / kg qui était supérieur à la limite maximum européenne établie (5 µg OTA / kg) (Zaied et al., 2009 cité par Tantaoui-Elaraki et al., 2018). Cependant, un autre travail a signalé que le niveau d'OTA ne dépassait pas 33,8 µg / kg dans les échantillons de céréales (Tantaoui-Elaraki et al., 2018). Une enquête sur 120 échantillons de céréales (orge, maïs, riz et blé) des marchés algériens a été réalisée pour évaluer la présence de 15 mycotoxines (toxines ochratoxine A, déoxynivalénol, fumonisine B₁ et B₂, T-2 et HT-2, zéaralénone, fusarénol X, citrinine, stérigmatocystine, enniatines A, A₁, B et B₁ et la beauvericine). ZEA a été trouvée dans 6 échantillons du riz (23,3%), étant la concentration moyenne d'échantillons positifs de 9,9 µg / kg. La CIT n'a pas été détecté dans les échantillons du riz, même chose pour le BEA et les ENN (Mahdjoubi et al., 2020).

Les informations sur la contamination du riz par les mycotoxines en Tunisie sont limitées. Cependant, des niveaux d'aflatoxines (AFB₁+ AFB₂+ AFG₁+ AFG₂) relativement inférieurs sont signalés dans les échantillons du riz (Filazi et Sireli, 2013).

Tableau 17. La répartition mondiale des aflatoxines dans le riz.

Pays	Types d'AF produits	référence
Inde, Canada, Malaisie	AFB ₁	(Filazi et Sireli, 2013)
Iran, Suède, Chine, Japon, Nigeria, Turquie	AF	(Filazi et Sireli, 2013)
Pakistan	AF	(Ismail <i>et al.</i> , 2019)
Chine (riz brun)	AFB ₁	(Mahdjoubi <i>et al.</i> , 2020)

AF : Aflatoxine, la somme de AFB₁+ AFB₂+ AFG₁+ AFG₂

Chapitre III

Stratégies de lutte

1. Stratégies globales

Le proverbe dit : « Mieux vaut prévenir que guérir ». Ainsi, l'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture a recommandé une approche multi factorielle de gestion des mycotoxines dans la chaîne alimentaire :

- Etablir des limites réglementaires réalistes et scientifiques proportionnelles au risque et non exagérés

- Gérer les risques liés aux mycotoxines systématiquement par des recommandations pratiques spécifiques au pays et des plans nationaux

- Implémenter des outils adéquats de contrôle et de prévention pendant la récolte et lors de traitement industriel des aliments (GAP, HACCP)

- Analyser et tester les produits commerciaux

- Développer des procédures de décontamination

- Adopter des systèmes d'alerte basés sur des modèles climatiques qui prédisent les épidémies de mycotoxicose (Pineiro, 2008).

Les recommandations et les différentes méthodes de décontamination seront énumérées ci-dessous à partir de la littérature.

1.1 Recommandations et bonnes pratiques de prévention

- Campagnes de sensibilisation publique** : La sensibilisation sur les toxines, leurs risques sanitaires et les méthodes de contrôle peuvent aider à minimiser leur prévalence tout en présentant les constats scientifiques pour un développement personnel et national. Cette sensibilisation serait plus efficace si le langage utilisé est simple et que des professionnels de la santé, de l'agriculture, de la recherche sont impliqués.

- Pratiques de gestion** : Plantation en temps opportun, contrôle du stress de sécheresse, contrôle des parasites et des mauvaises herbes, récolte précoce, bon assainissement, nettoyage correct et le tri du produit agricole. La rotation des cultures aide aussi à réduire la prévalence des mycotoxines en rompant les cycles et l'accumulation des microorganismes toxigènes, ainsi que la culture des variétés résistantes aide à contrôler la propagation des toxines.

- Rôle des organismes de contrôle de la sécurité alimentaire** : Ces organismes doivent s'assurer que les denrées alimentaires dont la contamination par les mycotoxines dépasse les limites maximales autorisées soient retirées du marché après inspections de routine des niveaux de mycotoxines dans les aliments vendus et stockées, avec une disponibilité rapide des données. Ces

données peuvent servir à assurer que des mesures rapides et appropriées sont prises pour prévenir les problèmes liés aux mycotoxines et peuvent servir aussi comme un outil pour vérifier les niveaux de contamination au fil du temps. Cela, à son tour, va aider à évaluer les efforts du contrôle et le développement des modèles basés sur le climat pour améliorer la prédiction des niveaux de mycotoxines à l'avance.

-Exploitation des produits alimentaires contaminés : Ces derniers peuvent être utilisés ajout des liants de mycotoxines de qualité alimentaire aux aliments défectueux.

-Substitution des aliments plus susceptibles à contenir de grandes concentrations en mycotoxines (maïs, arachides) par des aliments comme le riz, les fèves...

-Approches biotechnologiques : Cultiver des plantes transgéniques résistantes aux mycotoxines. A titre d'exemple, Sumai 3, une variété chinoise du blé du printemps (avec les gènes QTL et Fhb1) est considéré comme le génotype le plus résistant à la fusariose et il est appliqué dans plusieurs application d'hybridation dans le monde (Bryla et *al.*, 2016 ; Achaglinkame et *al.*, 2017 ; Allameh et *al.*).

1.2 Méthodes de décontamination des aliments

Les consignes précédentes ne sont pas suffisantes, à savoir si elles sont appliquées en premier lieu. Pour cela, plusieurs méthodes physiques, chimiques et biologiques ont été suggérées pour décontaminer les aliments que ça soit avant ou après la récolte, ou en processus de transformation industrielle.

Il faut savoir que la stratégie de décontamination doit avoir les critères suivants :

-La mycotoxine doit être inactivée (détruite) par transformation à des composants non-toxiques ;

-les spores et le mycélium doivent être détruits, pour que de nouvelles toxines ne soient pas formées ;

-les denrées alimentaires et l'alimentation animale doivent garder leur valeur nutritionnelle et rester agréables au goût ;

-les propriétés physiques du matériel cru ne doivent pas changer significativement ;

-la stratégie doit être économiquement faisable, c'est-à-dire que le coût de la décontamination doit être inférieur que la valeur de la denrée contaminée (Allameh et *al.*).

a) Méthodes physiques

*Enlèvement des mycotoxines :

-La séparation physique : Employée dans les stades précoces de la post récolte, la séparation physique des graines contaminées peut être utile pour réduire la quantité de mycotoxines dans le lot entier. La séparation est généralement basée sur la décoloration, la fluorescence ou la

présence de moisissure sur la surface des graines et peut être performée manuellement ou instrumentalement.

-Le récurage et le polissage : Prendre en compte que la majorité des mycotoxines présentes dans les graines sont concentrées dans le péricarpe et la couche extérieure, les traitements physiques normalement adoptés pour les céréales, comme le récurage ou le polissage, peuvent contribuer à diminuer les niveaux des mycotoxines.

-Le nettoyage des graines : Il réduit la contamination par les mycotoxines en séparant les graines avec un grand développement des champignons, les graines fragmentées, et les matériaux comme la boue et les débris. De même, les décortiqueuses à disques mécaniques peuvent être efficaces dans l'enlèvement des mycotoxines, mais cette méthode dépend du degré de la dissémination fongique dans les graines.

-L'extraction par solvants : Peut éliminer efficacement les mycotoxines (surtout les AFs) des farines des graines oléagineuses sans former des sous-produits toxiques, réduire la qualité du produit ou diminuer son contenu protéique. Les solvants couramment utilisés sont : hexane-méthanol, méthanol-eau, acétonitrile-eau, 90% acétone aqueuse, et 80% isopropanol. Cependant, cette technique a d'importantes limitations y compris le processus à grande échelle (élimination d'extraits toxiques) et le fait que la nourriture traitée avec cette technique ne peut pas être utilisée pour la consommation humaine.

-La photodégradation : Dans les céréales, cette méthode diminue les concentrations de la toxine par 40% jusqu'à 75% après 3h à 30h d'exposition à la lumière directe du soleil, respectivement.

-La pression atmosphérique : Elle peut surmonter les problèmes relatifs aux méthodes classiques de la décontamination physique puisque cette technologie est économique, écologiquement neutre et affecte insignifiquement la qualité des produits.

-Les matériaux adsorbants : Ils permettent de lier et d'immobiliser la toxine, et permettent même de réduire leur biodisponibilité par entérosorption, et cette méthode est largement utilisée en production animale bien que quelques études seulement ont été menés avec des populations humaines sévèrement exposées aux AFs alimentaires. En général, les adsorbants sont classifiés en minéraux (argile, charbon activé, terre des diatomées) et organiques (fibres végétales, extraits des parois cellulaires des bactéries et levures).

***La dégradation des mycotoxines :**

-L'inactivation thermique : Malgré la grande stabilité thermique des mycotoxines, l'efficacité des traitements thermiques dépend de plusieurs facteurs : la température de chauffage, le temps, le type de nourriture, et la teneur en humidité. L'extrusion et les micro-ondes sont les plus utilisées, et sont capable de réduire les mycotoxines dans l'industrie alimentaire. L'extrusion est un processus de haute température et courte durée basé sur la combinaison de la chaleur, de l'humidité et la force mécanique. Elle modifie la matière première, en donnant de nouvelles formes et

structures avec de nouvelles caractéristiques nutritionnelles et fonctionnelles. Ce traitement a diverses applications dans l'industrie alimentaire surtout dans celle des céréales. L'extrusion peut réduire les AFs de 50 à 80% selon la température et l'humidité. Les micro-ondes peuvent également réduire le taux des mycotoxines dans la nourriture, bien que les données soient limitées sur la décontamination des AFs. Il est important d'indiquer que quelques méthodes traditionnelles de cuisine en nord d'Afrique peuvent présenter des moyens intéressants pour réduire le danger des mycotoxines pour le consommateur.

-L'irradiation : C'est un procédé durant lequel une radiation ionisante pénètre le produit. La radiation ionisante fait référence à l'énergie radiante qui se déplace dans l'espace sous forme d'ondes électromagnétiques. L'irradiation alimentaire implique l'exposition de l'aliment à l'un des énergies ionisantes : Rayons gamma, rayons X ou les faisceaux d'électrons. Les rayons gamma sont les plus utilisés dans l'industrie alimentaire

Inconvénients de la décontamination physique : Dans le processus de la réduction des taux des mycotoxines, la perte du matériel alimentaire et/ou des nutriments devrait être considérée. De plus, ces traitements peuvent libérer et augmenter la biodisponibilité des mycotoxines masquées dans le produit traité, ou bien modifier sa structure chimique à une forme indétectable par les méthodes analytiques conventionnelles en maintenant leur toxicité. Pour résoudre ces problèmes, des outils analytiques spécifiques sont nécessaires pour déterminer les modifications structurales et les connections à la matrice alimentaire. En outre, des méthodes pour l'atténuation des mycotoxines dans les aliments doivent être soumises à l'approbation réglementaire, impliquant l'analyse de risques selon des références comme celles établies par la réglementation européenne 1881/2006.

b) Les méthodes chimiques

***L'utilisation des substances chimiques :**

-L'ammonisation : Malgré que l'ammoniac modifie ou détruit la molécule d'AF efficacement, cette substance n'est pas pratique à cause de sa toxicité potentielle et sa modification des propriétés nutritionnelles et organoleptiques du produit.

-Les agents oxydants : Beaucoup d'entre eux sont capables de détruire les mycotoxines, mais seulement quelques-uns sont adaptés pour l'alimentation humaine et animale, exemple le peroxyde d'hydrogène.

-Le bisulfite de sodium : Il s'agit d'une méthode de détoxification pour AFB₁. Ce composant est relativement peu coûteux et est déjà couramment ajouté à différents aliments comme inhibiteur de dégradation enzymatique, antioxydant et agent bactériostatique. L'insertion de NaSO₃ dans la double liaison du cycle furane bloque le site de liaison principale d'AFB₁ avec l'ADN.

-Acides organiques : Agissent en empêchant la croissance de la population fongique ce qui empêche la production de mycotoxines, ou par inactivation d'AF. Cette inactivation peut être la conséquence l'hydrolyse du cycle lactone de l'AFB₁ à moitié, menant à sa conversion à des produits moins toxiques.

-Ozonisation : Le gaz d'ozone (O₃) présente des caractéristiques intéressantes à l'industrie alimentaire, y compris l'effet désinfectant. En plus de sa capacité à inactiver les microorganismes, O₃ a été proposé comme agent de dégradation des mycotoxines, surtout les AFs. L'ozone agit soit par attaque directe ou par attaque des radicaux OH formés à sa décomposition.

***Extraits aqueux de plantes** : Les composants présents dans ces extraits sont biodégradables, respectueux de l'environnement, biologiquement sans danger, renouvelables et potentiellement peu coûteux. Il a été suggéré que l'effet de décontamination est dû aux modifications chimiques.

Contraintes d'utilisation des extraits aqueux des plantes : La reproductibilité de l'activité, à cause du manque de l'identification et la haute variabilité des composants bioactifs et leur arôme fort qui limite leurs applications. Il n'y a pas d'études sur l'utilisation de ces produits dans la décontamination des mycotoxines dans les aliments, bien qu'il a été démontré l'efficacité d'incorporer les plantes autant qu'additifs comme méthode alternative pour prévenir les oxydants naturels et les activités antimicrobiennes.

c) Les méthodes biologiques :

Il s'agit d'une alternative intéressante en industrie alimentaire à cause de leur intérêt naturel et le rejet croissant du consommateur des traitements chimiques.

***La biocompétition** : Les toxines synthétisées par une moisissure toxigène donnée peuvent diminuer si le substrat fongique est déjà utilisé par d'autres souches non toxigènes.

***L'utilisation des cellules microbiennes** : Elles sont utilisées à cause de leur grande efficacité, spécificité et rentabilité, pourvu qu'ils n'utilisent pas les matériaux alimentaires pour la croissance, et qu'ils ne libèrent pas des composants toxiques dans la matrice alimentaire. Ces microorganismes peuvent être appliqués dans la période pré-récolte pour réduire la contamination dans les récoltes, ou bien en post récolte pour dégrader les mycotoxines déjà produites dans les graines. Les bactéries lactiques acides (LAB) et *Saccharomyces cerevisiae* sont les plus utilisés, elles ont une grande capacité de décontamination des aliments, et elles sont souvent utilisées comme cultures de départ dans les aliments fermentés et les boissons. Il existe 2 mécanismes :

-L'adsorption : C'est lorsque les cellules viables et non viables enlèvent les toxines après les avoir lié physiquement à cause de l'adhérence de la toxine aux composants de la paroi bactérienne (peptidoglycanes et polysaccharides), et elles peuvent même être utilisées comme entérosorbants pour réduire la biodisponibilité de ces toxines dans le tractus gastro-intestinal des animaux exposés. Cette capacité, notamment présente chez les LAB (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*...), peut être augmentée avec des traitements physiques, chimiques et enzymatiques.

-La biodégradation : Beaucoup de microorganismes peuvent utiliser les mycotoxines comme source de carbone d'où leur dégradation et leur transformation à des composés non ou peu toxiques. A titre d'exemple, les microorganismes capables de dégrader les mycotoxines : Les

bactéries (*Flavobacterium aurantiacum*, *Corynebacterium rubrum* ...), les levures (*Trichosporon mycotoxinivorans*, *Saccharomyces cerevisiae*) et les moisissures (*Rhizopus sp.*, *Mucor sp.*).

-Enzymes et autres stratégies microbiennes : Des espèces fongiques comme *Phoma glomerata* et *A.niger* ont la capacité de produire des enzymes dégradantes de mycotoxines, les rendant les agents potentiels de décontamination. La bioconversion des mycotoxines par les enzymes microbiennes a été étudiée depuis le début des années 90, bien que les mécanismes de dégradations impliquées ne soient pas bien déterminés. Les enzymes développées peuvent être potentiellement appliquées dans l'industrie alimentaire humaine et animale pour réduire les taux des mycotoxines et/ou leurs effets toxiques. Cependant, le nombre des enzymes ayant cette capacité est petit : Seulement 7 brevets ont été reportés dans la dernière décennie, probablement à cause de la complexité du processus de détoxification. D'autres études ont été faites explorant les domaines de protéomique, de génétique, de génomique comparative, de transcriptomique, pour caractériser les champignons producteurs de ces enzymes et potentiellement développer les techniques de génie enzymatique afin de générer de nouveaux gènes de détoxification de mycotoxines ou améliorer ceux déjà existants dans les cellules microbiennes (Baranyi et *al.*, 2015 ; Ismail et *al.*, 2018 ; Tantaoui-Elaraki et *al.*, 2018).

Enfin, des chercheurs ont suggéré une étude plus approfondie pour apporter une solution plus radicale à la contamination des aliments par les mycotoxines, c'est l'étude des gènes responsables de la synthèse de ces toxines et leurs voies de régulation transcriptionnelle et traductionnelle. La connaissance de ces voies de régulation va permettre le développement de méthodes de contrôle plus efficaces pour éviter la présence de mycotoxines dans les produits alimentaires (Gil-Serna et *al.*, 2019). Il est aussi important de déterminer plus encore les aspects d'utilisation des diverses méthodes dans les produits alimentaires, principalement en relation avec leur impact sur les caractéristiques organoleptiques des aliments (Ismail et *al.*, 2018).

2. Dans la filière céréales

Les phytopathologistes considèrent généralement l'étiologie, ou la cause, d'une maladie d'une plante l'étape initiale pour le développement d'une stratégie de gestion de ce problème (Cotty et *al.*, 2008). Ainsi, pour les céréales, trois lignes de défense devront être assurées : Empêcher les champignons toxigènes d'atteindre les céréales par des méthodes biologiques (de préférence par des souches non-toxigènes natives) et par des bonnes pratiques agricoles ; empêcher le champignon de croître dans la graine par augmentation de la résistance de l'hôte (par croisement ou en utilisant la génie génétique) ; empêcher le champignon de produire ses toxines par augmentation de la résistance de l'hôte et cibler des facteurs qui inhibent la synthèse des toxines (Bhatnagar et *al.*, 2008)

L'utilisation de la méthode biologique compétitive par application d'un inoculum des souches d'*A.flavus* non aflatoxigènes en pré récolte est étudiée en Afrique pour réduire la contamination du maïs par les AFs, bien que cette méthode soit coûteuse, plus ou moins acceptable

par les agriculteurs locaux et que son efficacité soit difficile à prouver à cause de la méthodologie d'échantillonnage utilisée (Pitt, 2019). Des mesures pour réduire l'infestation des céréales par les insectes en pré et post récolte sont testées en ouest de l'Afrique, et cela soit par l'application des insecticides pendant le stockage ou des barrières dans le champ (Hell *et al.*, 2008). Autre méthode très utilisée pour contrôler la fusariose du blé est l'application des fongicides mais cette utilisation complique la prédiction de la production d'autres mycotoxines comme les TCT, car les fongicides peuvent stimuler la production des toxines sous certaines conditions (Magan *et al.*, 2008).

La moisson retardée augmente la contamination par les moisissures, la production des mycotoxines et l'infestation par les insectes. Postérieurement à la récolte, le séchage des graines avant le stockage à un niveau d'humidité de 10 à 13% et le facteur le plus important pour freiner la croissance fongique (Magan *et al.*, 2008).

Les conditions de stockage telles que la température et l'humidité relative devront être bien contrôlés pour minimiser l'activité fongique et la production de toxines dans les céréales et ceci implique la construction des structures de stockage appropriées (Achaglinkame *et al.*, 2017). Autre solution potentielle pour la réduction des AFs et des fumonisines dans les graines du maïs est l'utilisation des sacs hermétiques. Ce genre d'emballage crée un micro atmosphère modifié limité en O₂ et enrichi en CO₂ ce qui diminue la croissance fongique et la production des mycotoxines. L'efficacité de cette méthode a été étudiée par Murashiki *et al.* en 2018, ils ont constaté une diminution des taux de l'AFB₁, tandis que les concentrations des fumonisines n'ont pas changé significativement (WMJ, 2018).

Concernant les méthodes de décontamination, les méthodes physiques sont les plus utilisées et ont montré différents degrés d'efficacité pour les céréales, notamment le nettoyage, le tri, le récurage, le polissage et la cuisson. Dans l'étude de Zebiri *et al.* (2018), les auteurs ont constaté que le taux de contamination des graines de blé nettoyées est inférieur à celui des graines non nettoyées.

Tableau 18. Etudes récentes sur la décontamination des céréales par des méthodes physiques (Cheli *et al.*, 2013 ; Ismail *et al.*, 2018).

Traitement	Aliment	Mycotoxine (Teneur initiale en µg/kg)	Conditions expérimentales	Réduction (%)	Auteur
Micro-ondes	Blé	AFB ₁ (90-158)	6 min	54	Kaur <i>et al.</i> , 2014
Rayons UV	Blé	AFB ₁ (200)	Rayons UVC pendant 6 min	> 80	Ghanghro <i>et al.</i> , 2016
Rayons gamma	Maïs	AFB ₁ (39,1)	3-5 min	> 60	Janblónska <i>et</i> Mánkowska

					(2014)
Chauffage	Riz	AFB1 (189)	Cuisson à feu doux pendant 30 min	25	Sani et al., 2014
Lumière pulsée	Riz (dur)	AFB ₁ (50)	80 sec	75	Wang et al., 2016
	Son du riz		15 sec	90	
Ozone	Graines de blé	AFB1 (100)	60 mg/l pendant 180 min	95	Savi et al., 2015
	Graines de maïs	AFB1 (83)	90 mg/l pendant 20 min	78	Luo et al., 2014
	Farine du maïs	AFB ₁ (53,5)	75 mg/l pendant 60 min	79	Luo et al., 2016
Nettoyage	Blé	DON (193-15095)	/	7	Edwards et al., 2011
		NIV (20-384)			
		ZEA (5-768)			
Décorticage	Blé	DON (68,58)	/	15	Cheli et al., 2010
		DON	/	64	Sovrani et al., 2012

3. Application de HACCP

Les rapports précédents ont indiqué que la prévention des mycotoxines et les stratégies de contrôle doivent être basées sur des principes de la sécurité alimentaire comme HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point*). C'est l'un des systèmes de gestion désigné pour identifier, évaluer, contrôler, et prévenir les risques comme les pathogènes alimentaires et les mycotoxines avant leur occurrence par des moyens de traitement et du contrôle de matériel au lieu d'une méthode réactive d'évaluation de contrôle de qualité du produit final. HACCP est un système qui demande l'établissement d'un code de pratiques qui inclut les bonnes pratiques d'agriculture (GAP) et de fabrication durant la chaîne du produit depuis la fabrication du matériel cru, la provision, le traitement jusqu'à la production, la distribution, et la consommation du produit final. Grâce à cette bonne pratique renforcée par une réglementation stricte, les gens des pays développés sont mieux protégés des contaminations par les mycotoxines (Cinar et Onbasi, 2019 ; Kebede et al., 2020). En outre, l'approche HACCP est potentiellement plus rentable que la simple réglementation des mycotoxines (Pineiro et al., 2008).

Le comité du conseil national sur les critères microbiologiques des aliments (NACMCF) a publié en 1992 un guide sur HACCP qui contient 7 principes de base, un arbre de décision, et tous les plans. L'établissement de HACCP est une stratégie efficace pour la prévention, le contrôle, et la

surveillance périodique des mycotoxines depuis le champ jusqu'au consommateur. Il y a 12 étapes successives recommandées pour l'établissement d'un système de HACCP :

1. Etablissement de l'équipe HACCP.
2. Description du produit
3. Identification de l'usage prévu du produit
4. Etablissement du diagramme du flux des produits
5. Confirmation du diagramme du flux sur site
6. Identification et analyse du (des) risque (s) (**principe 1**) : Il existe 2 groupes de risques pour la sécurité alimentaire : les risques biologiques (bactéries, parasites, virus...) et chimiques (agents nettoyants, pesticides, antiparasitaires, biocides, mycotoxines), et physiques (morceaux de verre ou de métaux, les bijoux...). Les mycotoxines sont classées autant que risques biologiques et chimiques.
7. Détermination des points de contrôle critiques (**CCP**) (**principe 2**) : L'arbre de décision est utilisé pour éliminer ou prévenir un risque de sécurité alimentaire ou le réduire à un niveau acceptable. Les fruits secs, les noix, les céréales, la pâtisserie fabriquée à partir des céréales, les fourrages sont sensibles aux mycotoxines selon la réglementation européenne et donc les mycotoxines sont des CCP pour ces produits.
8. Etablissement des limites critiques pour ces CCP (**principe 3**) : Ces limites doivent être définies et vérifiées pour chaque CCP. Les limites acceptables des mycotoxines peuvent être réglées par la réglementation du pays et la spécification du consommateur ou du fabricant ce qui est au-dessous de la limite réglementaire.
9. Etablissement d'une procédure de surveillance (**principe 4**) : Identification de méthodes de détection appropriées, sensibles et rapides qui appliquent des mesures ou des observations physiques, chimiques et biologiques pour chaque CCP.
10. Etablissement d'une action corrective (**principe 5**) : C'est lorsque le résultat de la surveillance indique une déviation du CCP cible. Ces actions doivent être immédiates et doivent assurer que le CCP soit sous le contrôle.
11. Vérification du plan HACCP (**principe 6**) : Les teneurs des mycotoxines dans le produit final doivent être dans les normes acceptables. Cette vérification implique les étapes suivantes : Des tests microbiologiques et/ou chimiques, questionnement des employés, un audit externe ou interne par une personne indépendante pour assurer que le système HACCP est implémenté.
12. Tenue de registre (**principe 7**) : Il faut laisser une preuve sur comment identifier, surveiller, et vérifier chaque risque. Le plan HACCP, l'organigramme du produit, la description du produit, l'équipe HACCP, les documents d'analyse des risques, les résultats d'analyse sont

requis pour vérifier si le contrôle de chaque risque est approprié ou non (Cinar et Onbasi, 2019).

Néanmoins, cette méthodologie n'est pas sans inconvénients. En effet, L'analyse HACCP est plus applicable en post récolte qu'en pré récolte à cause des problématiques suivantes :

- La situation réelle en terrain est complexe et les données scientifiques sont insuffisantes
- Il n'existe aucune mesure qui garantit l'élimination ou la prévention des mycotoxines
- Les facteurs économiques qui influencent les pratiques agricoles
- Les conditions climatiques qui limitent le niveau de contrôle dans le champ (Magan et *al.*, 2008).

Tableau 19. Plan HACCP du maïs (Cinar et Onbasi, 2019).

Etape	Risque	Limite (s) critique (s)	Surveillance (fréquence)	Action corrective
Croissance / pré récolte	Humidité inférieure qui induit au stress végétal	aw	Mesure de l'humidité du sol (chaque semaine)	Irrigation additionnelle
	Manque des nutriments ce qui induit au stress végétal	Teneurs en N, P et K.	Application d'engrais (selon les recommandations)	Engrais additionnels
	Attaque des insectes ce qui induit des dommages aux graines	Quantité des insectes	Inspection visuelle et échantillonnage (chaque semaine)	Application de pesticides selon le plan antiparasitaire
Récolte	Dommages aux graines par les moissonneurs	Teneur en humidité ≤ 14	Mesure de l'humidité des graines (avant la récolte)	Retarder la récolte jusqu'au séchage suffisant des graines
Stockage	Humidité excessive des graines	Teneur en humidité ≤ 14	Mesure de l'humidité des graines (juste avant le stockage)	Séchage mécanique

	Attaque d'insectes qui induit la pénétration des champignons aux graines	Infestation nulle	Inspection visuelle (chaque semaine)	Application de pesticides selon le plan antiparasitaire
	Humidité et température ambiantes élevées	Selon la littérature	Mesure de la température, de l'humidité et du flux de l'air (chaque jour)	Ajuster le temps d'aération ou flux pour atteindre les valeurs désirées

Conclusion

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires toxiques produites par divers champignons toxigènes appartenant notamment aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* produisant respectivement les principales mycotoxines présentant une importance sur le plan sanitaire et agroéconomique : les aflatoxines (AFs), l'ochratoxine A (OTA) et les toxines de *Fusarium*, principalement la zéaralénone (ZEA), les fumonisines (FUM), la déoxynivalénol (DON), la nivalénol (NIV), la toxine T-2 (T-2) et la toxine HT-2 (HT-2). Cependant, d'autres mycotoxines deviennent un problème mondial très préoccupant en raison de leur forte incidence dans les aliments, y compris les toxines fusariennes émergentes, telles que la beauvéricine (BEA) et les enniatines (ENN). Les mycotoxines présentent une grande variété de structures chimiques ayant différents effets biologiques sur les animaux et les humains, tels que la tératogénicité, cancérogénicité, mutagénicité, immunotoxicité ou neurotoxicité. En raison des effets toxiques de ces composés, l'UE et de nombreux pays ont fixé des limites maximales ou des recommandations dans les denrées alimentaires destinées à la consommation humaine. Ces toxines se retrouvent à l'état de contaminants naturels de nombreuses denrées d'origine végétale, notamment les céréales et qui sont produites, à la fois au champ et en stockage ; ils concernent à la fois le grain et la plante entière. En outre, un certain nombre de facteurs intrinsèques (physiologiques) et extrinsèques (physico-chimiques) affectent les niveaux de contamination dans les denrées alimentaires par les mycotoxines. Or, la température et l'humidité relative, ainsi que, les conditions de stockage inadéquates sont les plus concernés parmi eux. Les tests basés sur l'ADN utilisés, à savoir les tests PCR spécifiques à l'espèce et à la séquence des régions génomiques diagnostiques cibles, représentent une stratégie utile en termes de temps d'analyse, de sensibilité et de spécificité. Afin de quantifier la concentration de ces mycotoxines dans différents produits alimentaires, des méthodes analytiques fiables et précises permettant leur identification sans ambiguïté et leur quantification précise à faible concentration sont nécessaires. En ce sens, différentes techniques analytiques telles que HPLC et LC-MS/MS sont devenues les techniques de choix pour la détermination de multiples mycotoxines dans les denrées alimentaires.

Dans plusieurs études qui ont été menées sur l'évaluation des céréales à travers le monde et dans le Maghreb en particulier, un nombre considérable des échantillons à base du blé, du maïs et du riz ont été trouvés positifs pour les mycotoxines produites principalement par les genres fongiques toxigènes d'*Aspergillus*, de *Penicillium* et de *Fusarium* dans des conditions environnementales défavorables sur le terrain et pendant le stockage. De plus, de nombreux échantillons se sont révélés contaminés par plus d'une mycotoxine. Les niveaux maximaux acceptables établis par l'UE ont été dépassés dans de nombreux échantillons à base du blé, du maïs et du riz pour la DON, OTA, ZEA, AF et pour l'ensemble (FB₁+FB₂). Bien que leurs concentrations soient faibles, les mycotoxines émergentes (notamment BEA et ENN) ont été signalées dans certains cas. La cooccurrence des mycotoxines a été observée dans plusieurs échantillons analysés. Parmi eux, certains échantillons étaient contaminés par jusqu'à 9

mycotoxines, c'est le cas de la combinaison trouvée dans les 2 échantillons du maïs en Algérie (DON + FB₁ + FB₂ + T-2 + ZEN + FX + CIT + BEA + ENNA₁).

En raison de ces niveaux élevés de contamination, cette étude a conclu que des stratégies efficaces pour la prévention, le contrôle, et la surveillance périodique des mycotoxines comme GAP, HACCP sont nécessaires pour réduire les risques de santé associés à leurs expositions. Ainsi que des efforts accrus ont été déployés pour améliorer les méthodes analytiques non seulement pour la détection de très faibles concentrations de mycotoxines dans les denrées alimentaires mais aussi pour la détermination simultanée de différents types de mycotoxines. A notre avis, beaucoup plus d'efforts sont nécessaires pour dresser un portrait fidèle sur le terrain concernant la contamination des céréales à base de blé, du maïs et du riz par les mycotoxines notamment dans le Maghreb.

Références bibliographiques

- A.F.S.S.A. (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) (2009).- Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Rapport final, 308p.
- Abo El Yazeed H., Hassan., Moghaieb R. E.A., Hamed M. et Refai M. (2011).- Molecular Detection of Fumonisin-producing *Fusarium* Species in Animal Feeds Using PolymeraseChain Reaction (PCR). *Journal of Applied Sciences Research*, **7** (4), 420-427.
- Abdel-Hadi A., Carter D. et Magan N. (2011).- Discrimination between aflatoxigenic and non-aflatoxigenic *Aspergillus* section *Flavi* strains from Egyptian peanuts using molecular and analytical techniques, *World Mycotoxin Journal*, 1-10.
- Achaglikame M.A, Opoku N. et Amagloh F.K. (2017).- Aflatoxin contamination in cereals and legumes to reconsider usage as complementary food ingredients for Ghanaian infants: A review, *Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism*, **10**, 1-7.
- Ait Mimoune N., Riba A., Verheecke C., Mathieu F. et Sabaou N. (2016).- Fungal Contamination And Mycotoxin Production By *Aspergillus* Spp. in Nuts And Sesame Seeds, *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, **5** (4), 301-305.
- Aldars-Garcia L., Ramos A.J., Sanchis V. et Marin S. (2015).- An attempt to model the probability of growth and aflatoxin B1 production of *Aspergillus flavus* under non-isothermal conditions in pistachio nuts, *Food Microbiology*, **51**, 117-129.
- Allameh A., Ziglari T. et Rasooli I.- Phytoinhibition of Growth and Aflatoxin Biosynthesis in Toxigenic Fungi. Aflatoxins – Detection, Measurement and Control, chapitre 15, 283-316.
- Arroyo-Manzanares N., Huertas-Pérez J. F., García-Campaña A. M. et Gámiz-Gracia L. (2014).- Simple methodology for the determination of mycotoxins in pseudocereals, spelt and rice. *Food Control*, **36**, 94-101.
- Asemoloye M.D., Jonathan S.G., Saddaf R., Habiba Z., Okoawo E.E. et Bello T.S. (2017).- Incidence and Chemical Implications of Aflatoxin in Street-Vended Foods, *Aflatoxin-Control, Analysis, Detection and Health Risks*, 154-176.
- Azzoune N., Mokrane S., Riba A., Bouras N., Verheecke C., Sabaou N. et Mathieu F. (2015).- Contamination of common spices by aflatoxigenic fungi and aflatoxin B₁ in Algeria, *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*, **8** (1), 137-144.
- Baranyi N., Kocsube S. et Varga J. (2015).- Aflatoxins: Climate change and biodegradation, *Current Opinion in Food Science*, **5**, 60-66.

- Benkerroum N. (2020).- Aflatoxins: Producing-Molds, Structure, Health Issues and Incidence in Southeast Asian and Sub-Saharan African Countries. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **17** (1215), 1-40.
- Bertuzzi T., Romani M., Rastelli S. et Giorni P. (2019).- Mycotoxins and Related Fungi in Italian Paddy Rice During the Growing Season and Storage. *Toxins*, **11** (151), 1-12.
- Bhatnagar D., Rajasekaran K., Cary J.W., Brown R., Yu J. et Cleveland T.E. (2008).- Molecular approaches to development of resistance to preharvest aflatoxin contamination. *In : Mycotoxins Detection Methods, Management, Public Health and Agricultural Trade*, chapitre 22, 257-275.
- Benhaim M. (2017).- Développements méthodologiques en protéomique quantitatives pour mieux comprendre la biologie évolutive d'espèces non séquencées. Thèse de Doctorat, 224p. Université de Strasbourg, France.
- Bouti K., Verheecke-Vaessen C., Mokrane S., Meklat A., Djemouai N., Sabaou N., Mathieu F. et Riba A. (2019).- Polyphasic characterization of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from animal feeds in Algeria, *Journal Of Food Safety*, 1-9.
- Bryla M., Waskiewicz A., Podolska G., Szymczyk K., Jedrzejczak R., Damaziak K. et Sulek A. (2016).- Occurrence of 26 Mycotoxins in the Grain of Cereals Cultivated in Poland, *Toxins*, **8** (160), 1-20.
- Cabanes F.J. et Bragulat M. R. (2018).- Black Aspergilli and ochratoxin A-producing species in foods. *Food mycology*, **23**, 1–10.
- Chakraborty S. et Newton A.C. (2011).- Climate change, plant diseases and food security: an overview, *Plant Pathology*, **60**, 2-14.
- Cheli F., Pinotti L., Rossi L. et Dell'Orto V. (2013).- Effect of milling procedures on mycotoxin distribution in wheat fractions: A review, *LWT - Food Science and Technology*, **54**, 307-314.
- Chilaka A.C., De Boevre M., Olusegun Oladimeji A. et De Saeger S. (2017).- The Status of Fusarium Mycotoxins in Sub-Saharan Africa: A Review of Emerging Trends and Post-Harvest Mitigation Strategies towards Food Control, *Toxins*, **9** (19), 1-36.
- Christensen C.M. et Tuite J. (2010).- Mycotoxins. *C R C Critical Reviews in Environmental Control*, **2** (1-4), 57-80.
- Cinar A. et Onbasi E. (2019).- Mycotoxins the hidden danger in foods. *In : Mycotoxins and Food Safety*, 1-21.

- Deabes M. M. Y., Amra H. A., Damaty E. L. M. et Rowayshed G. H. (2018).- Natural Co-Occurrence of Aflatoxins, Cyclopiazonic Acid, and their Production by *Aspergillus Flavus* Isolates from Corn Grown in Egypt. *Advances in Clinical Toxicology*, **3** (3), 2577- 4328.
- Dossa J. S. B., Togbe E. C., Pernaci M., Agbossou E. K. et Ahohuendo B. C. (2019).- Effet des facteurs de l'environnement sur les *Fusarium* pathogènes des plantes cultivées. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **13** (1), 493-502.
- El Dawri E., Yasein A., El Said A. (2019).- Detection of mycobiota, aflatoxigenic and ochratoxigenic genes, and cytotoxic ability in spices, *Food Science and Nutrition*, 1-10.
- Eltariki F., Tiwari K., Ariffin I.A. et Alhoot M.A (2018).- Genetic Diversity of Fungi Producing Mycotoxins in Stored Crops, *Journal of Pure and Applied Microbiology*, **12** (4), 1815-1823.
- Eskola M., Kos G., Elliott C.T., Hajslova J., Mayar S. et Krska R. (2019).- Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited 'FAO estimate' of 25%, *Critical reviews in food science and nutrition*, 1-19.
- FAO/University of Nairobi. (2011).- Report of A Workshop On "Prevention And Control Of Aflatoxin Contamination Along The Mais Value Chain". *National Stakeholders Workshop on Aflatoxin Control along the Maize Value*, 40p.
- Filazi A. et Sireli U.T. (2013).- Occurrence of aflatoxins in food. *In : Aflatoxins - Recent Advances and Future Prospects*, chapitre 7, 144-170.
- Forget-Richard F. et Oswald I. (2012).- Mycotoxines : quelles avancées scientifiques pour une meilleure maîtrise des risques ?, *Innovations Agronomiques*, **24**, 17-33.
- Frisvad J.C., Hubka V., Ezekiel C.N., Hong S.B., Novakova A., Chen A.J., Arzanlou M., Larsen T.O., Sklenar F., Mahakarnchanakul W., Samson N.A. et Houbraken J. (2018).- Taxonomy of *Aspergillus* section *Flavi* and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins, *Studies in Mycology*, **93**, 1-63.
- Gashgari R.M., Shebany Y.M. et Gherbawi Y.A. (2010).- Molecular Characterization of Mycobiota and Aflatoxin Contamination of Retail Wheat Flours from Jeddah Markets, *Foodborne Pathogens And Disease*, **7** (9), 1047-1054.
- Gauthier A. (2016).- Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé. Thèse de Doctorat, 132p. UB, France.
- Gil-Serna J., Vazquez C. et Patino B. (2019).- Genetic regulation of aflatoxin, ochratoxin A, trichothecene, and fumonisin biosynthesis: A review, *International Microbiology*, 1-8.

- Hell K., Fandohan P., Bandyopadhyay R., Kiewnick S., Sikora R. et Cotty P.J. (2008).- Pre- and postharvest management of aflatoxin in maize: An African perspective. *In : Mycotoxins Detection Methods, Management, Public Health and Agricultural Trade*, chapitre 19, 219-229.
- Heshmati A., Zohrevand T., Khaneghah A.M., Nejad A.S.M. et Sant'Ana A.S. (2017).- Co-occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in dried fruits in Iran: Dietary exposure risk assessment, *Food and chemical toxicology*, **106**, 202-208.
- Intercéréales (2014).- Guide interprofessionnel de gestion des mycotoxines dans la filière céréalière. 44p.
- Iqbal M., Abbas M., Adil M., Nazir A. et Ahmad I. (2019).- Aflatoxins biosynthesis, toxicity and intervention strategies : A review. *International Scientific Organization*, **5** (3), 168-191.
- Ismail A., Gonçalves B.L., de Neeff D.V., Ponzilacqua B., Coppa C.F.S.C., Hintzsche H., Sajid M., Cruz A.G., Corassin C.H. et Oliveira C.A.F. (2018).- Aflatoxin in foodstuffs: Occurrence and recent advances in decontamination, *Food Research International*, **113**, 74–85.
- Ismail A., Riaz M., Gong Y.Y., Akhtar S. et Sun J. (2019).- Aflatoxins in Plant-Based Foods, *Plant and Human Health*, **2**, 313-325.
- Jahangiri N., Bahrapour A. et Taraz M. (2014).- Non-invasive optical techniques for determination of blood glucose levels : A review article, *Iranian Journal of Medical Physics*, **11** (2), 224-232.
- Janhager J. (2018).- Mycotoxins – an increasing problem? – The effect of climate changes on *Fusarium* mould populations and the occurrence of fusarotoxins in Swedish cereals. Projet indépendant, 51p. Université des sciences agricoles, Suède.
- Janic Hajnal E., Kos J., Krulj J., Krstović S., Jajić I., Pezo L., Šarić B. et Nedeljković N. (2017).- Aflatoxins contamination of maize in Serbia: the impact of weather conditions in 2015. *Food Additives and Contaminants : Part A*, **34** (11), 1999–2010.
- Janic Hajnal E., Mastilovic J., Bagi F., Orcic D., Budakov D., Kos J. et Savic Z. (2019).- Effect of Wheat Milling Process on the Distribution of *Alternaria* Toxins, *Toxins*, **11** (139), 1-15.
- Jedidi I., Soldevilla C., Lahouar A., Marin P., Gonzalez-Jaén M.T. et Said S. (2018).- Mycoflora isolation and molecular characterization of *Aspergillus* and *Fusarium* species in Tunisian cereals, *Saudi Journal of Biological Sciences*, **25**, 868-874.

- Joubrane K., El Khoury A., Lteif R., Rizk T., Kallassy M., Hilan C. et Maoun R. (2011).- Occurrence of aflatoxin B1 and ochratoxin A in Lebanese cultivated wheat, *Mycotoxin Research*, **27**, 249-257.
- Journal Officiel de la République Algérienne n°39 (2017).- Arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires, Ministère du Commerce, 22p.
- Kachapulula P. W., Akello J., Bandyopadhyay R. et Cotty P. J. (2017).- *Aspergillus* section *Flavi* community structure in Zambia influences aflatoxin contamination of maize and groundnut. *International Journal of Food Microbiology*, **261**, 49–56.
- Kebede H., Liu X., Jin J. et Xing F. (2020).- Current status of major mycotoxins contamination in food and feed in Africa, *Food Control*, **110**, 1-9.
- Kehinde M.T., Oluwafemi F., Itoandon O.O., Orji F.A. et Ajayi O.I. (2014).- Fungal Profile and Aflatoxin Contamination in Poultry Feeds Sold in Abeokuta, Ogun State, Nigeria, *Nigerian food journal*, **32** (1), 73-79.
- Khaneghah A.M., Fakhri Y., Gahruie H.H., Niakousari M. et Sant'Ana A.S. (2019). - Mycotoxins in cereal-based products during 24 years (1983–2017): A global systematic review, *Trends in Food Science & Technology*, **91**, 95-105.
- Kumar R., Ansari K.M., Saxena N., Dwivedi P.D., Jain S.K. et Das M. (2012).- Detection of Ochratoxin A in wheat samples in different regions of India, *Food Control*, **26**, 63-67.
- Lahouar A. (2016).- Mycotoxines et champignons mycotoxinogènes dans les grains de sorgho commercialisé en Tunisie : Incidence et profils écophysiologicals. Thèse de Doctorat, 225p. ISBM, Tunisie.
- Lavkor I., Var I., Saglam S., Uckun O., Tekin A. et Savas O. (2019).- Presence of some mycotoxins in peanuts from harvest to storage, *Legume Research*, 1-4.
- Lecellier A. (2013).- Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. Thèse de Doctorat, 196p. URCA, France.
- Leslie J.F. et Summerell B.A. (2006).- The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing ed., Iowa.
- Logrieco A.F et Moretti A. (2008).- Between emerging and historical problems: An overview of the main toxigenic fungi and mycotoxin concerns in Europe. *In* : Mycotoxins Detection Methods, Management, Public Health and Agricultural Trade, chapitre 13, 139-153.
- Lutfullah G. et Hussain A. (2012).- Studies on contamination level of aflatoxins in some cereals and beans of Pakistan, *Food Control*, **23**, 32-36.

- Magan N., Olsen M. et Aldred D. (2008).- Prevention strategies for trichothecenes and ochratoxin in cereals. *In* : Mycotoxins Detection Methods, Management, Public Health and Agricultural Trade, chapitre 32, 369-383.
- Mahdjoubi C.K., Arroyo-Manzanares N., Hamini-Hadar N., Garcia-Campana A.M., Kihel M. et Gamiz-Garcia L. (2020).- Multi-Mycotoxin Occurrence and Exposure Assessment Approach in Foodstuffs from Algeria, *Toxins*, **12** (194), 1-18.
- Medina A., Valle-Algarra F.M., Mateo R., Gimeno-Adelantado J.V., Mateo F. et Jimenez M. (2006).- Survey of the mycobiota of Spanish malting barley and evaluation of the mycotoxin producing potential of species of *Alternaria*, *Aspergillus* and *Fusarium*, *International Journal of Food Microbiology*, **188**, 196-203.
- Mohammed A., Chala A., Dejene M., Fininsa C., Hoisington D.A., Sobolev V.S. et Arias R.S. (2016).- *Aspergillus* and aflatoxin in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) and groundnut cake in Eastern Ethiopia, *Food Additives and Contaminants : Part B*, 291-298.
- Mudili V., Siddaih C. N, Nagesh M., Garapati P., Naveen Kumar K., Murali S. H., Yli Mattila T. et Batra H.V. (2014).- Mould incidence and mycotoxin contamination in freshly harvested maize kernels originated from India. *J Sci Food Agric*, **94** (13), 2674-83.
- Munkvold G.P., Arias S., Taschl I. et Gruber-Dorniger C. (2019).- Mycotoxins in Corn: Occurrence, Impacts, and Management. *In* : Corn chemistry and technology book, chapitre 4, 235-287.
- Naik M.K., Guru Prasad G.R., Jadhaf H.P., Hashem A., Elsayed F.A. et Sayyed R.Z. (2018).- Differentiation of toxigenic and atoxigenic *Aspergillus flavus*: Polyphasic approach, a new dimension, *Indian Journal of Experimental Biology*, **56**, 892-898.
- Nguyen K. T. N. et Ryu D. (2014).- Concentration of ochratoxin A in breakfast cereals and snacks consumed in the United States. *Food Control*, **40**, 140-144.
- Omara T., Nassazi W., Omute T., Awath A., Laker F., Kalukusu R., Musau B., Nakabuye B. V., Kagoya S., Otim G. et Adupa E. (2020).- Aflatoxins in Uganda: An Encyclopedic Review of the Etiology, Epidemiology, Detection, Quantification, Exposure Assessment, Reduction, and Control. *International Journal of Microbiology*, 18p.
- Orlando B. (2016).- Mycotoxines Émergentes sur Céréales, Un Observatoire pour orienter la recherche. *Perspectives Agricoles*, N°439, 34-36.
- Palacios S.A., Ramirez M.L., Cabrera Zalazar M., Farnochi M.C., Zappacosta D., Chiacchiera S.M., Reynoso M.M., Chulze S.N. et Torres A.N. (2011).- Occurrence of *Fusarium spp.* and Fumonisin in Durum Wheat Grains, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59**, 12264–12269.

- Pineiro M. (2008).- FAO program on mycotoxin management. *In* : Mycotoxins Detection Methods, Management, Public Health and Agricultural Trade, chapitre 33, 387-401.
- Pitt J.I. (2019).- The pros and cons of using biocontrol by competitive exclusion as a means for reducing aflatoxin in maize in Africa, *World Mycotoxin Journal*, **12** (2), 103-112.
- Pitt J.I. et Hocking A.D. (2009).- *Fungi and Food Spoilage*, 3ème ed. Springer Science ed., New York.
- Rahjoo V., Zad J., Javan-Nikkhah M., Mirzadi Gohari A., Okhovvat S.M., Bihamta M.R., Razzaghian J. et Klemsdal S.S. (2008).- Morphological and molecular identification of *Fusarium* isolated from maize ears in Iran. *Journal of Plant Pathology*, **90** (3), 463-468.
- Rasheed U., Wu H., Wei J., Ou X., Qin P., Yao X., Chen H., Chen A.J. et Liu B. (2019).- A polyphasic study of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from corn in Guangxi, China- a hot spot of aflatoxin contamination, *International Journal of Food Microbiology*, **310**, 1-12.
- Remza J., Lacko-Bartosova M. et Kosik T. (2014).- Official control of wheat mycotoxins contamination in the Slovak Republic, *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, **3** (numéro spécial 3), 270-272.
- Refai M., Hassan A. et Hamed M. (2015).- Monograph On The Genus *Fusarium*, **22** (6), 1-275.
- Riba A. (2008).- Recherche sur les champignons producteurs d'aflatoxines et d'ochratoxine A dans la filière blé en Algérie. Thèse de Doctorat, 190p. UMMTO, Algérie.
- Riba A., Bouras N., Mokrane S., Mathieu F., Lebrihi A. et Sabaou N. (2010).- *Aspergillus* section *Flavi* and aflatoxins in Algerian wheat and derived products, *Food and Chemical Toxicology*, **48**, 2772-2777.
- Riba A., Mokrane S., Mathieu F., Lebrihi A. et Sabaou N. (2008).- Mycoflora and ochratoxin A producing strains of *Aspergillus* in Algerian wheat, *International Journal of Food Microbiology*, **122**, 85-92.
- Rigal G. (2018).- La maîtrise des mycotoxines du champ à l'assiette : une préoccupation agricole, alimentaire et de santé publique – Cas des céréales –, *Réseau français pour la santé végétale*, 22p.
- Rodriguez-Carrasco Y., Ruiz M.J., Font G. et Berrada H. (2013).- Exposure estimates to *Fusarium* mycotoxins through cereals intake, *Chemosphere*, **93**, 2297–2303.

- Shabani-Gholami M.H., Razzaghi-Abyaneh M. et Shams-Ghahfarokhi M. (2017).- Aflatoxins and aflatoxigenic fungi in Iran: A systematic review of the past, present, and future, *Mycologia Iranica*, **4** (2), 65-84.
- Sheikh Imarundin S.A., Akil A., Siti-Hamidah M.S., Zainul A.Z., Norfahana A., Aidee K.K. et Md E.H. (2014).- The Potential Hazards of *Aspergillus* sp. in Foods and Feeds, and the Role of Biological Treatment: A Review, *Journal of Microbiology*, **52** (10), 807-818.
- Skrbic B., Malachova A., Zivancev J., Veprikova Z. et Hajslova J. (2011).- *Fusarium* mycotoxins in wheat samples harvested in Serbia: A preliminary survey, *Food Control*, **22**, 1261-1267.
- Smith M.C., Madec S., Coton E. et Hymery M. (2016).- Natural Co-Occurrence of Mycotoxins in Foods and Feeds and Their in vitro Combined Toxicological Effects, *Toxins*, **8** (94), 1-36.
- Stein R.A. et Bulboaca A.E (2017).- Mycotoxins. *In* : Foodborne Diseases, Third edition, chapitre 21, 407-446.
- Stanciu O., Juan C., Berrada H., Miere D., Loghin F. et Manes J. (2019).- Study on Trichothecene and Zearalenone Presence in Romanian Wheat Relative to Weather Conditions, *Toxins*, **11** (163), 1-17.
- Tabuc C. (2007).- Flore Fongique de Différents Substrats et Conditions Optimales de Production des Mycotoxines. Thèse de Doctorat, 190p. INPT-UB, France.
- Tantaoui-Elaraki A., Riba A., Oueslati S. et Zinedine A. (2018).- Toxigenic fungi and mycotoxin occurrence and prevention in food and feed in northern Africa_a review, *World Mycotoxin Journal*, **11** (3), 385-400.
- Tang E.N., Ndindeng S.A., Bigoga J., Traore K., Silue D. et Futakuchi K. (2019).- Mycotoxin concentrations in rice from three climatic locations in Africa as affected by grain quality, production site, and storage duration, *Food Sciences and Nutrition*, 1-14.
- Thathana M. G., Murage H., King Abia A. L. et Pillay M. (2017).- Morphological Characterization and Determination of Aflatoxin-Production Potentials of *Aspergillus flavus* Isolated from Maize and Soil in Kenya. *Journal Agriculture*, **7** (80), 1-14.
- Turksoy S. et Kabak B. (2020).- Determination of aflatoxins and ochratoxin a in wheat from different regions of Turkey by HPLC with fluorescence detection, *Acta Alimentaria*, **49** (1), 118-124.

Vidal A., Marin S., Ramos A.J., Cano-Sancho G. et Sanchis V. (2013).- Determination of aflatoxins, deoxynivalenol, ochratoxin A and zearalenone in wheat and oat based bran supplements sold in the Spanish market, *Food and Chemical Toxicology*, **53**, 133-138.

W.M.J (World Mycotoxin Journal) (2018).- Mycotoxins in Africa. Numéro spécial, **11** (3), 305-309.

Yitbarek M.B. et Tamir B. (2013).- Mycotoxines and/or Aflatoxines in Milk and Milk Products: Review, *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences*, **7** (1), 1-32.

Zebiri S., Mokrane S., Verheecke-Vaessen C., Choque E., Reghioui H., Sabaou N., Mathieu F. et Riba A. (2018).- Occurrence of ochratoxin A in Algerian wheat and its milling derivatives, *Toxin Reviews*, **37**, 1-6.

Sites web

(<https://www.alltech.com/fr-fr/blog/que-sont-les-mycotoxines-cachees-modifiees-et-emergentes.>)

(<https://www.agenceecofin.com/cereales/1507-67859-la-production-mondiale-de-riz-a-atteint-778-6-millions-de-tonnes-en-2018-fao>).

([https://decontaminationquebec.com/penicillium-moisissure-commune-maisons/.](https://decontaminationquebec.com/penicillium-moisissure-commune-maisons/))

([https://anr.fr/Projet-ANR-18-CE34-0014.](https://anr.fr/Projet-ANR-18-CE34-0014))

([https://www.sciencedirect.com/.](https://www.sciencedirect.com/))

([https://www.shutterstock.com/.](https://www.shutterstock.com/))

([http://m.univ-brest.fr/.](http://m.univ-brest.fr/))