

Popular Democratic Republic of Algeria
Ministry of High Education and Scientific Research
Abbes Laghrou University- Khenchela-
Natural and life sciences Faculty
Molecular and Cellular Biology Department



N° de série :

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES DE MASTER ACADEMIQUE

Domaine : **Sciences de la nature et de la vie**

Filière : **Sciences Biologiques**

Spécialité : **Microbiologie Appliquée**

Présenté par :

Rima BOUDOUAOUR

Zineb SAHLI

Thème

Evaluation de la contamination de blé, d'orge et
d'avoine consommés à la wilaya de Khenchela par les
champignons ochratoxinogènes

Mémoire soutenu publiquement le 22/06/ 2025 Devant le jury composé de :

Dr. Fatima GAGUI

MAA, Université Abbes Laghrou Khenchela, Présidente

Dr. Nadia AZZOUNE

MAA, Université Abbes Laghrou Khenchela, Encadrante

Dr. Nozha MAYOUF

MCA, Université Abbes Laghrou Khenchela, Examinatrice

Année Universitaire

2024/2025

REMERCIEMENT

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Nous tenons à remercier **GAGUI FATIMA** (MAA), Maitre de conférences à Université Abbès Laghrour Khenchela, qui a honoré ce travail en acceptant de présider le jury. On la remercie profondément.

Nous remercions sincèrement **MAYOUF NOZHA** (MCA), Maitre assistante à l'université Abbès Laghrour Khenchela, nous sommes très reconnaissantes d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons également à exprimer, nos remerciements, nos reconnaissances et notre respect à notre encadreur **AZZOUNE NADIA** (MAA), Maitre-assistante A à l'université Abbès Laghrour Khenchela, pour ses orientations, sa patience et ses précieux conseils.

Un très grand merci à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail ...

A ma chère mère et mon cher père, que ce travail soit l'expression de ma profonde reconnaissance pour le soutien moral et matériel que vous m'avez toujours apporté tous les deux. Merci d'avoir fait de moi la personne que je suis aujourd'hui, pour les valeurs que vous m'avez transmises et de m'avoir offert une vie pleine de moments heureux.

A mes frères Alaa eddîn et Fouad et ma sœur Wafa, que ce travail soit le témoignage de mon profond attachement et de ma sincère fraternité. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A mon neveu Amjed et ma nièce Rahaf que dieu vous protège et procure santé, réussite et longue vie.

A mes amis et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce travail Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude et ma sincère reconnaissance.

Rîma

Dédicace

*Je tiens en premier lieu à remercier **ALLAH** de m'avoir donné la force, le courage, la chance et la santé de mener à bien ce travail.*

À ma famille,

Mes amies,

Tous ceux qui m'aiment et que j'aime

zineb

Résumé

Evaluation de la contamination de blé, d'orge et d'avoine consommés à la wilaya de Khenchela par les champignons ochratoxinogènes

Les céréales sont des composants alimentaires de base consommés dans le monde entier, servant de sources essentielles de nutriments pour les humains et les animaux. Cependant, leur sensibilité à la contamination par des mycotoxines, en particulier l'ochratoxine A représente un risque sérieux pour la sécurité sanitaire des aliments et la santé publique en vu de son effet toxique. L'OTA est produite par certains champignons filamenteux dire ochratoxinogènes qui appartient aux genres *Aspergillus*. L'objectif de ce travail est d'étudier la contamination de blé, d'orge et d'avoine consommées au niveau de la wilaya de Khenchela par les champignons ochratoxinogènes. À cet effet un total de 48 échantillons de céréales (blé, orge et avoine) a été collecté au niveau des différents points de ventes de 04 communes de la wilaya de Khenchela (Khenchela centre, Kais, El Hamma, Yabous) pour les analyser. Les résultats d'analyse mycologique par la méthode indirecte ont montré un taux de contamination fongique allant de $2,1 \times 10^3$ UFC/g à 6×10^4 UFC/g alors que le taux le plus élevé est obtenu dans les échantillons d'orge de la commune d'El Hamma. Les isolats fongiques identifiés appartiennent principalement aux genres suivants : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* et *Mucor* avec une prédominance du genre *Aspergillus* qui a été isolé dans tous les échantillons avec des taux allant de 30% à 62% soit une moyenne de 44,25%, suivi par le genre *Penicillium* avec des taux allant de 20% à 50% soit une moyenne de 29%. les espèces d'*Aspergillus* section *Flavi* sont les plus dominant dans tous les échantillons analysés suivi par section *Nigri* et la section *Circumdati*. Le criblage des isolats ochratoxinogènes basé sur la mise en évidence de la fluorescence sous UV à 365nm sur le milieu CYA a montré que parmi les 50 isolats des genres *Aspergillus* section *Nigri* et *Circumdati*, 15 isolats se sont révélés producteurs de l'OTA. La CCM a révélé que les isolats ochratoxinogènes possèdent des différents niveaux de production d'OTA. Ceci impose à prendre des mesures de bonnes pratiques agricoles et d'hygiène visant à réduire la contamination de manière significative afin d'assurer un produit de bonne qualité sanitaire sans risque pour le consommateur.

Mots clés : Blé, Orge, Avoine, OTA, *Aspergillus*, Champignons.

Abstract

Evaluation of the contamination of wheat, barley and oats consumed in the wilaya of Khenchela by ochratoxigenic fungi

Cereals are staple food components consumed worldwide, serving as essential sources of nutrients for humans and animals. However, their susceptibility to contamination by mycotoxins, in particular ochratoxin A, represents a serious risk to food safety and public health due to its toxic effect. OTA is produced by certain filamentous fungi known as ochratoxinogens, which belong to the *Aspergillus* genera. The aim of this work is to study the contamination of wheat, barley and oats consumed in the wilaya of Khenchela by ochratoxinogenic fungi. To this end, a total of 48 cereal samples (wheat, barley and oats) were collected from various sales outlets in 04 communes of the Khenchela wilaya (Khenchela center, Kais, El Hamma, Yabous) for analysis. The results of mycological analysis using the indirect method showed a fungal contamination rate ranging from 2.1×10^3 CFU/g to 6×10^4 CFU/g, with the highest rate obtained in barley samples from the commune of El Hamma. The fungal isolates identified belong mainly to the following genera: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* and *Mucor*, with a predominance of the *Aspergillus* genus, which was isolated in all samples with rates ranging from 30% to 62%, i.e. an average of 44.25%, followed by the *Penicillium* genus with rates ranging from 20% to 50%, i.e. an average of 29%. *Aspergillus* species of the *Flavi* section were the most dominant in all samples analyzed, followed by the *Nigri* section and the *Circumdati* section. Screening of ochratoxinogenic isolates based on UV fluorescence at 365nm on CYA medium showed that among the 50 isolates of the genera *Aspergillus* section *Nigri* and *Circumdati*, 15 isolates were OTA producers. TLC revealed that ochratoxinogenic isolates have different levels of OTA production, which calls for good agricultural and hygienic practices aimed at significantly reducing contamination to ensure a product of good sanitary quality without risk to the consumer.

Key words: Wheat, Barley, Oats, OTA, *Aspergillus*, Fungi.

ملخص

تقييم تلوث القمح والشعير والشوفان المستهلك في ولاية خنشلة بالفطريات المسببة للتسمم الغذائي

تعد الحبوب من المكونات الأساسية التي يتم استهلاكها في جميع أنحاء العالم، حيث تعد مصدرا أساسيا للعناصر الغذائية للإنسان والحيوان، ومع ذلك فإن قابليتها للتلوث بالسموم الفطرية، ولا سيما Ochratoxin A، تمثل خطرا كبيرا على سلامة الأغذية والصحة العامة بسبب تأثيرها السام. وينتج Ochratoxin A عن بعض الفطريات الخيطية المعروفة باسم الأوكراتوكسينات التي تنتمي إلى *Aspergillus*. الهدف من هذا العمل هو دراسة تلوث القمح والشعير والشوفان المستهلكة في ولاية خنشلة بالفطريات المسببة للتسمم. ولهذه الغاية، تم جمع ما مجموعه 48 عينة من الحبوب (القمح والشعير والشوفان) من مختلف منافذ البيع في 04 بلديات في ولاية خنشلة (مركز، قايس، الحامة، يابوس) لتحليلها. أظهرت نتائج التحليل الفطري باستخدام الطريقة غير المباشرة معدل تلوث فطري يتراوح بين $2,1 \times 10^3$ UFC/g و 6×10^4 UFC/g، مع الحصول على أعلى معدل في عينات الشعير من بلدية الحامة، تنتمي العزلات الفطرية التي تم تحديدها بشكل رئيسي إلى الأجناس التالية: *Aspergillus* و *Penicillium* و *Fusarium* و *Alternaria* و *Mucor* مع غلبة جنس *Aspergillus* الذي تم عزله في جميع العينات بنسب تتراوح بين 30% إلى 62% أي بمعدل 44.25% يليه جنس *Penicillium* بنسب تتراوح بين 20% إلى 50% أي بمعدل 29%. كانت أنواع *Aspergillus* من قسم *Flavi* هي الأكثر انتشارا في جميع العينات التي تم تحليلها يليه القسم *Nigri* و *Curmdati*. أظهر فحص العزلات المسببة للأوكراتوكسينات استنادا إلى الكشف عن التألق تحت ضوء الأشعة فوق البنفسجية عند 365 نانومتر على وسط CYA أنه من بين 50 عزلة من أجناس *Aspergillus* قسم *Nigri* و *Curmdati*، وجد أن 15 عزلة تنتج OTA، وكشف الفحص الضوئي عن أن العزلات المسببة للأوكراتوكسينات لها مستويات مختلفة من إنتاج OTA، مما يستدعي اتباع ممارسات زراعية وصحية جيدة تهدف إلى الحد من التلوث بشكل كبير من أجل ضمان منتج ذي جودة صحية جيدة دون مخاطر على المستهلك.

الكلمات المفتاحية: القمح، الشعير، الشوفان، OTA، *Aspergillus*، الفطريات.

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 01: structure d'un hyphe et d'un siphon | 5 |
| Figure 02: Schéma représentant la structure <i>Aspergillus</i> | 9 |
| Figure 03: Les types de <i>pénicilles</i> | 11 |
| Figure 04: Aspect microscopiques des conidies des <i>Fusarium</i> | 12 |
| Figure 05: Spores d' <i>Alternaria spp.</i> | 13 |
| Figure 06: Structure chimique des ochratoxines | 20 |
| Figure 07: Aspect microscopique (gauche) et macroscopique (droite) d' <i>Aspergillus flavus</i> , après culture sur MEA à 25°C pendant 5 jours | 24 |
| Figure 08: <i>A. alliaceus</i> , A. aspect macroscopique (Culture de 7 jours sur CYA)..... | 25 |
| Figure 09: <i>Aspergillus ochraceus</i> . A. aspect macroscopique: culture de 7 jours sur CYA. B-D. Aspect microscopique: B. la tête conidienne. C. conidies. D. sclérote..... | 26 |
| Figure 10: (I) Culture sur milieu CYA de (A) <i>A. niger</i> , (B) <i>A. carbonarius</i> . (II) Aspect microscopique des Conidies de (A) <i>A. carbonarius</i> et (B) <i>A. niger</i> | 27 |
| Figure 11: Images représentative du blé dur et tendre | 33 |
| Figure 12: Production mondiale des céréales et utilisation des stocks (2014-2025) | 36 |
| Figure 13: Représentation schématique de la technique de suspension-dilutions utilisée pour l'analyse fongique..... | 41 |
| Figure 14: Schéma du protocole de l'étude du pouvoir producteur des l'OTA..... | 44 |
| Figure 15: Densité de la flore fongique totale des échantillons dans les différentes régions étudiées par la méthode de suspension-dilution..... | 47 |
| Figure 16: Aspect macroscopique des souches fongiques isolées des les échantillons analysés sur milieu DRBC..... | 47 |

| | |
|--|-----------|
| Figure 17: Aspects macroscopique et microscopique des principaux genres isolés des échantillons analysés..... | 48 |
| Figure 18: Pourcentage des principaux genres fongiques isolés des différents échantillons... | 49 |
| Figure 19: Aspect macroscopique des souches fongiques des différentes sections d' <i>Aspergillus</i> isolées des échantillons analysés..... | 50 |
| Figure 20: Pourcentage des différentes sections du genre <i>Aspergillus</i> dans les échantillons de blé, d'orge et d'avoine..... | 50 |
| Figure 21: Isolat producteur d'OTA Fluorescence bleue sous UV (365 nm)..... | 51 |
| Figure 22: Image sous UV 365 nm montrant les taches bleues correspond à l'OTA produite par les isolats ochratoxinogènes sur CCM..... | 51 |
| Figure 23: Pourcentage d'isolats ochratoxinogènes dans les échantillons analysés..... | 52 |

Liste des tableaux

| | |
|--|-----------|
| Tableau 01: Différent aspect des spores | 6 |
| Tableau 02: Différente espèce de <i>penicillium</i> produire les mycotoxines..... | 10 |
| Tableau 03: Certaines mycotoxines importantes et leurs effets sur les humains et les animaux..... | 15 |
| Tableau 04: Propriétés chimiques et physiques les plus importantes de l'OTA | 21 |
| Tableau 05: Présence d'OTA dans les produits alimentaires de divers pays | 29 |
| Tableau 06: Limites réglementaires pour la présence d'OTA dans divers produits et produits alimentaires..... | 31 |
| Tableau 07: Classification botanique du blé..... | 34 |
| Tableau 08: Classification botanique d'orge..... | 34 |
| Tableau 09: classification d'avoine..... | 35 |
| Tableau 10: Répartition selon l'origine, le nombre et la nature des échantillons collectés.... | 39 |
| Tableau 11: Les résultats de la flore fongique totale des échantillons dans les différentes régions étudiés par la méthode indirecte..... | 46 |
| Tableau 12: La fréquence des principaux genres fongiques dans les différents échantillons..... | 49 |
| Tableau 13: Répartition des isolats ochratoxinogènes dans les échantillons analysés..... | 52 |

Liste des abréviations

A.O.C.A : Association Officielle des Chimistes Analytiques.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AFB1 : AflatoxineB₁.

AFs : Aflatoxines

aw : Activité de l'eau.

BEN : Néphropathie endémique des Balkans.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

CIRC : Centre international de recherche sur le cancer.

CPA : Acide cyclopiazonique.

CYA : Milieu Czapek Yeast Agar.

DON : Désoxynivalénol.

DRBC : Milieu Dichloran, Rose Bengal, Chloramphénicol.

ELISA : Enzyme-Linked immunosorbent assay.

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation.

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance.

MEA : Malt Extract Agar.

OAIC : Office Algérien Interprofessionnel des Céréales.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

OTA : Ochratoxine A.

PCR : polymérase Chain réaction.

PDA : Milieu Potato Dextrose Agar.

PH : potentiel hydrogène.

PKS : polykétide synthase.

UFC/g : Unité Formant Colonies par gramme.

UV : Ultraviolet.

ZEN : Zéaralénone.

% : pourcentage.

°C : Degré Celsius.

µm : Micro- mètre.

Table des matières

Table des matières

Table des matières

Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction01

Revue bibliographique

Chapitre 01: Les champignons mycotoxinogènes

| | |
|--|----|
| 1. Généralité sur les champignons..... | 04 |
| 2. Identification..... | 04 |
| 2.1. Identification morphologique..... | 04 |
| 2.1.1. Caractères macroscopiques..... | 04 |
| 2.1.2. Caractères microscopiques..... | 05 |
| a) Thalle végétatif..... | 05 |
| b) Origine des spores (endogènes ou exogènes)..... | 06 |
| c) Aspect des spores..... | 06 |
| d) Modèle de regroupements des conidies..... | 06 |
| 2.2. Identification des moisissures par les outils moléculaires..... | 07 |
| 3. Les champignons mycotoxinogènes..... | 08 |
| 3.1. Les principaux genres des champignons mycotoxinogènes..... | 08 |

Table des matières

| | |
|-----------------------------------|----|
| A) Genre <i>Aspergillus</i> | 08 |
| B) Genre <i>Penicillium</i> | 09 |
| C) Genre <i>Fusarium</i> | 11 |
| D) Genre <i>Alternaria</i> | 12 |

Chapitre 02: Les mycotoxines

| | |
|--|----|
| 1. Introduction..... | 14 |
| 2. Généralités sur les mycotoxines..... | 14 |
| 3. Mycotoxinogénèse..... | 16 |
| 3.1. Facteurs influençant la mycotoxinogénèse..... | 16 |
| 3.1.1. Facteurs extrinsèques..... | 16 |
| 3.1.2. Facteurs intrinsèques..... | 19 |
| 4. Mycotoxines dans les denrées alimentaires..... | 19 |

Chapitre 03: L'ochratoxine A

| | |
|--|----|
| 1. Origine et définition..... | 20 |
| 2. Structure..... | 20 |
| 3. Propriétés physico-chimiques de l'Ochratoxine A..... | 20 |
| 4. Méthode d'analyse de l'ochratoxine A dans les aliments..... | 22 |
| a) Extraction..... | 22 |
| b) Détection..... | 22 |
| 5. Champignons ochratoxinogènes dans le blé, d'orge et d'avoine..... | 23 |
| 5.1. <i>Aspergillus</i> | 23 |
| 5.1.1 <i>Aspergillus</i> section <i>flavi</i> | 23 |
| 5.1.1.1. <i>Aspergillus flavus</i> | 24 |
| 5.1.1.2 <i>Aspergillus alliaceus</i> | 24 |
| 5.1.2. Section <i>Circumdati</i> | 25 |
| 5.1.2.1. <i>Aspergillus ochraceus</i> | 25 |
| 5.1.3. Section <i>Nigri</i> | 26 |
| 5.1.3.1. <i>Aspergillus carbonarius</i> | 27 |
| 5.1.3.2. <i>Aspergillus niger</i> | 27 |

Table des matières

| | |
|--|----|
| 5.2. <i>Penicillium</i> | 28 |
| 6. Toxicité de l'OTA..... | 28 |
| 7. Contamination des aliments..... | 29 |
| 8. Réglementation d'OTA dans les denrées alimentaires..... | 30 |

Chapitre 04: Les céréales

| | |
|--|----|
| 1. Introduction..... | 33 |
| 2. Blé..... | 33 |
| 2.1. Taxonomie..... | 33 |
| 3. Ogre..... | 34 |
| 3.1. Taxonomie..... | 34 |
| 4. L'avoine..... | 35 |
| 4.1. Taxonomie..... | 35 |
| 5. Production mondiale des céréales..... | 35 |
| 6. Production des céréales en Algérie..... | 36 |

Matériel et Méthodes

| | |
|--|----|
| 1. Matériel | 39 |
| 1.1. Echantillons..... | 39 |
| 1.2. Souches de référence..... | 39 |
| 1.3. Milieux de culture..... | 40 |
| 1.4. Appareillage, produits chimiques et standards analytiques..... | 40 |
| 2. Méthodes | 40 |
| 2.1. Etude de la mycobiota..... | 40 |
| 2.1.1. Dénombrement et isolement de la flore fongique..... | 40 |
| 2.1.1.1. Technique de suspension-dilutions et ensemencement sur milieu gélosé..... | 41 |
| 2.1.2. Identification des isolats fongiques..... | 42 |
| 2.1.2.1. Identification macroscopique..... | 42 |
| 2.1.2.2. Identification microscopique..... | 42 |
| 2.1.3. Etude du pouvoir producteur d'ochratoxine A..... | 43 |
| 2.1.3.1. Culture et extraction..... | 43 |

Table des matières

| | |
|---|----|
| 2.1.3.2. Analyse par chromatographie sur couches mince (CCM)..... | 43 |
|---|----|

Résultats et discussion

| | |
|--|----|
| 1. Résultats..... | 46 |
| 1.1. Etude de la flore fongique..... | 46 |
| 1.1.1. Dénombrement et distribution des genres fongiques dans le blé, l'orge et l'avoine..... | 46 |
| 1.1.1.1. Dénombrement par la méthode de suspension-dilution..... | 46 |
| 1.1.2. Identification morphologique des moisissures..... | 47 |
| 1.1.2.1. Reconnaissance des principaux genres fongiques isolés des différents échantillons analysés..... | 47 |
| 1.2. Distribution des principaux genres fongiques..... | 49 |
| 1.2.1. Distribution des sections d' <i>Aspergillus</i> dans les échantillons analysés..... | 50 |
| 1.3. Etude du pouvoir producteur d'OTA par les isolats d' <i>Aspergillus</i> | 51 |
| 1.3.1. Détection de la fluorescence sur milieu CYA et par CCM..... | 51 |
| 3.1.2. Les souches ochratoxinogènes isolées des échantillons..... | 52 |
| 2. Discussion..... | 53 |
| Conclusion..... | 57 |
| Annexe..... | 60 |
| Référence bibliographique..... | 63 |

Introduction

Introduction

Le nombre des maladies d'origine alimentaire constituent l'un des problèmes les plus préoccupants à l'échelle mondiale. Ces maladies engendrent à la fois des souffrances humaines et de graves retombées économiques et sociales (**Riba, 2008**). Il est donc essentiel de connaître les sources possibles de contamination alimentaire pour une bonne nutrition (**Rhouati, 2013**). Parmi les contaminants biologiques, la contamination des produits alimentaires par les mycotoxines a récemment été reconnue par l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S) comme source importante de maladies d'origine alimentaire (**O.M.S, 2002**).

Les mycotoxines sont de petites molécules faiblement solubles dans l'eau, difficilement dégradables par les organismes vivants et très stables que ce soit en milieu acide, basique ou à la chaleur. Ces dernières infectent une multitude de produits d'origine végétale, y compris les céréales et les fruits, ainsi que les aliments transformés ou industriels tels que le lait, le café, les œufs et la viande. Selon la FAO (L'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture), environ 25% des céréales mondiales produites chaque année présentent une contamination par des mycotoxines (**Yiannikouris et Jouany, 2002**). Même à l'état de traces, les mycotoxines peuvent avoir des effets néfastes sur la santé humaine et animale.

Parmi les mycotoxines connues à ce jour, on s'intéresse dans ce travail aux ochratoxines qui sont principalement produites par les genres *Aspergillus* et *Penicillium*, qui se développent sur un très grand nombre de produits alimentaires et selon les conditions de température, pH et humidité (**Aloui, 2023**). La principale ochratoxine est l'ochratoxine A, qui sont la plus abondante et la plus toxique du groupe des ochratoxines. L'OTA est une toxine néphrotoxique avec des effets cancérigènes importants chez les rongeurs. Elle possède également des effets cytotoxiques, cancérigènes, tératogènes et immuno-toxiques chez l'homme (**Wu et al, 2011; Hoerr, 2020**).

Les céréales comme le blé, l'orge et l'avoine présentent le plus grand facteur de risque en raison de leur fréquence de contamination par les mycotoxines et de leur consommation importante.

Ainsi, l'objectif de notre étude est l'évaluation de la contamination du blé d'orge et l'avoine consommée au niveau de la wilaya de Khenchela par les champignons ochratoxinogènes.

Les principales questions de recherche auxquelles nous avons voulu répondre sont :

- ↗ Quelle est la flore fongique responsable de la contamination de blé, d'orge et d'avoine ?
- ↗ Quelle est le niveau de contamination de ces céréales par les souches ochratoxinogènes ?

Ce mémoire est réparti en trois grandes parties. La première partie est consacrée à l'étude bibliographique qui est composée de quatre chapitres

- ✓ Le premier chapitre traite les champignons, l'identification morphologique et moléculaire; ainsi que les principaux genres des champignons mycotoxinogènes.
- ✓ Le deuxième chapitre les mycotoxine
- ✓ Le troisième chapitre porte des généralités sur OTA, leur structure, leur toxicité ainsi que les champignons ochratoxinogènes dans le blé, l'orge et l'avoine.
- ✓ Le dernier chapitre présenté la taxonomie du blé, l'orge et l'avoine.

La deuxième partie est réservée à la présentation du matériel et méthodes mis en œuvre dans ce travail.

Et enfin, la troisième partie détaille la discussion des résultats obtenus ainsi que leur interprétation. Le travail est clôturé par une conclusion et perspectives.

Revue bibliographique

1. Généralité sur les champignons

Il est désormais largement accepté que les champignons constituent un règne distinct dans le règne du vivant.

Les mycètes sont des organismes eucaryotes présentant un appareil végétatif très simple (Thalle) constitués d'un mycélium pluricellulaire (filamenteux: moisissure) ou unicellulaire (levure). Ce sont des organismes chimio hétérotrophes, aérobies ou anaérobies facultatifs (certains sont anaérobies stricts), symbiotiques, saprophytes ou pathogènes. Ils préfèrent pour leur croissance optimale une température allant de 25 à 30°C (**Chabasse et Guiguen, 1999**).

Les moisissures ont des structures végétales qui n'incluent pas de composants traditionnels tels que les tiges, les racines, les feuilles ou les systèmes vasculaires. Ce corps végétatif, appelé thalle, est dépourvu des structure filamenteuse formées par les hyphes. Dans différentes communautés, le mycélium peut développer divers organes spécialisés dans la reproduction et la dissémination, collectivement appelés spores (**Nasraoui, 2015**).

2. Identification

Les critères utilisés pour l'identification des moisissures peuvent être morphologiques (Macroscopique et microscopique), biochimiques ou moléculaires (**Cahagnier et Richard, 1998**).

2.1. Identification morphologique

L'identification d'une espèce fongique a pendant longtemps été exclusivement basée sur l'observation des caractères cultureux et morphologiques. L'identification des champignons repose sur des critères cultureux, température de croissance et vitesse de pousse (**Tikour, 2018**) mais surtout sur des critères morphologiques associant l'aspect macroscopique des colonies, de leur revers et la morphologie microscopique tel l'aspect du mycélium, des sops, des phialides, conidiospores (**Cahagnier et Richard, 1998**).

2.1.1. Caractères macroscopiques

L'aspect de la colonie est le critère principale pour l'identification des moisissures, leur colonie à des apparences spécifiques qui les distingue des levures habituellement lisse, glabre humides d'aspect brillant ou mat. En effet, les champignons filamenteux possèdent des textures plutôt poudreuses, cotonneuses, veloutées ou granuleuses (**Chabasse et al., 2002**).

La forme de la surface de la colonie (cérébriforme, plissées ou simplement plats) ainsi que la consistance (molle, dure, friable) peuvent aussi orienter l'identification. La couleur, élément aussi d'importance, doit être observée sur le recto et le verso de la colonie. La présence de pigmentation dans le milieu est également un élément à prendre en considération. Ces deux derniers critères ne restent néanmoins pas stable du leur influence par la composition du milieu. La taille rentre aussi dans l'identification, la colonie peut être petite ou grande taille (**Chabasse et al., 2002**)

2.1.2. Caractères microscopiques

Basé sur l'examen microscopique des cultures. Un ou plusieurs fragments de culture ont été prélevés et répartis entre une lame et une lamelle pour l'étude microscopique des colonies fongiques. Généralement, une cible de 40 est suffisants pou mettre en évidence les éléments importants. (**Chabasse et al., 2002**).

a) Thalle végétatif

Tous les champignons possèdent un appareil végétatif constitué de filaments (hyphes), dont l'ensemble est appelé thalle ou mycélium (**Zebiri, 2020**), On distingue:

- ✓ Le thalle siphomycètes ou multi nucléé: il est constitué d'éléments tubulaires peu ou pas ramifiés, de diamètre important et irrégulier, sans cloisons. Ces filaments sont caractéristiques des (Zygomycètes et Phycomycètes) qui possèdent des siphons (**Chabasse et al., 2002**).
- ✓ Le thalle sept- mycètes (septa ou séparé):
Il correspond aux Ascomycètes filamenteux et Basidiomycètes. Le diamètre de ces filaments est étroit et régulier, possède mycélium cloisonné : leurs bords sont parallèles (**Zebiri, 2020**).

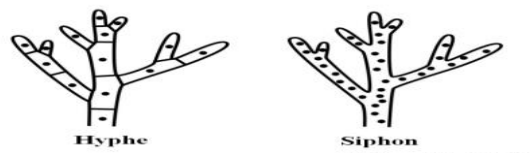


Figure 01: structure d'un hyphe et d'un siphon (**Piepenbring, 2015**).

b) Origine des spores (endogènes ou exogènes)

Il existe deux modes de formation de spores asexuées:

- ✓ Spores endogènes: Chez les Mucorales, les endospores sont produites au sein d'une capsule portée par les filaments spéciaux appelés sporange. **(Blaize et al., 2021)**.
- ✓ Spores exospores: chez les Basidiomycètes, les ascomycètes et les deutéromycètes, les spores asexuées se forment par bourgeonnements à partir de cellule spécialisées appelées conidies **(Balaize et al., 2021)**.

c) Aspect des spores

L'examen des spores et de leur tissu est une étape clé dans l'identification des moisissures **(Campbell et al., 2013)**.

La forme des spores et leur éventuelle séparation sont à la base de la classification des Deutéromycètes. Selon leur aspect, distingue cinq groupes de spores:

Tableau 01: Différents aspect des spores **(Chabasse et al., 2002)**.

| Type de Spore | La forme | Exemple |
|---------------|--|---------------------------------|
| Amérosbres | Unicellulaire de petite taille | <i>Penicillium, Aspergillus</i> |
| Didymospores | Bicellulaires | <i>Trichothecium</i> |
| Phragmospores | Pluricellulaires à cloison transversales | <i>Drechslera, Curvularia</i> |
| Dictyospores | Pluricellulaires à cloison transversales et longitudinales | <i>Alternaria</i> |
| Scolécospores | Étroites, effilées, souvent incurvées et cloisonnées transversal | <i>Fusarium</i> |

d) Modèle de regroupements des conidies

Les conidies sont, en générales regroupées à l'extrémité de la cellule conidiogène. Le regroupement des conidies représente aussi un critère d'identification **(Chabasse et al., 2002)**. On distingue plusieurs critères **(Amani, 2016)**:

- En grappes : *Beauveria, Trichothecium*.
- En Masses: *Botrytis*.

- En Têtes: *Acremonium*, *Trichoderma*.
- En Chaines basipètes: *Scopulariopsis*, *Aspergillus*, *Penicillium*.
- En chaines acropètes: *Cladosporium*, *Alternaria*.

2.2. Identification des moisissures par les outils moléculaires

La méthode traditionnelle de l'identification des moisissures est fondée sur les caractères morphologiques (**Chabasse et al., 2002**). Cette identification nécessite une culture, sur des milieux spécifiques, pendant 7 jours minimum afin d'obtenir la formation des conidies. L'absence de l'apparition des conidies rendra impossible l'identification du mycélium. D'autre part, la présence d'un très grand nombre d'espèces au sein d'un seul genre rend la distinction très difficile et nécessite un haut degré de spécialisation. En outre, les champignons constants dans la taxonomie peuvent conduire à une mauvaise identification et une fausse évaluation de son potentiel toxino-gène (**Amani, 2016**).

Plusieurs études ont développé des méthodes basées sur la biologie moléculaire, principalement par amplification PCR (polymérase Chain réaction). Ces méthodes sont utilisées en mycologie médicale et alimentaire pour détecter et quantifier les mycotoxines. Les premières méthodes basées sur la PCR ont été développées pour les espèces produisant des aflatoxines, qui sont les composés les plus toxiques parmi les mycotoxines. Différente méthode PCR quantitatives ont été développées pour la détection et la quantification de certains membres de la section *Nigri d'Aspergillus*, en particulier pour la détection et la quantification d'*A. carbonarius*. La polykétide synthase (PKS) est nécessaire pour la détection et la quantification des mycotoxines. Différents gènes PKS ont été identifiés chez *Aspergillus ochraceus*, *A. carbonarius*, *Penicillium nordicum* et *P. verrucosum* (**Amani, 2016**).

Les procédures des PCR suivies de séquences d'ADN ont été mises au point pour quantifier les différentes espèces de *Fusarium* dans les grains ou les tissus végétaux infectés. Certains tests reposent sur une amplification unique des gènes, tandis que d'autres sont spécifiques à l'espèce. En examinant les gènes présentant un polymorphisme élevé parmi les espèces étroitement apparentées, il est possible de créer des diagnostics spécifiques à l'espèce, ce qui permet de détecter et de quantifier la biomasse d'un large éventail d'espèces de *Fusarium* (**Niessen, 2007**).

3. Les champignons mycotoxinogènes

Les mycotoxines sont générés par de nombreuses moisissures, qui possèdent des caractéristiques génétiques leur permettant de produire des toxines (**Reboux, 2006**). Actuellement, plus de 150 moisissures capables de produire des mycotoxines ont été identifiées, et elles appartiennent principalement aux genres *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* (**Pamel et al., 2010**). Parmi ces genres, seules certaines espèces, et parfois des souches spécifiques au sein d'une même espèce, sont capables de produire des mycotoxines (**Ruppel et al., 2004**).

On peut identifier deux catégories de moisissures produisant des toxines. La première inclut celles qui colonisent leur support et génèrent des mycotoxines sur des plantes vieillissantes ou stressées, appelées alors toxines de champs. La seconde regroupe celles qui produisent des toxines après la récolte, connues sous le nom de toxines de stockage (**Sophie, 2006**).

3.1. Les principaux genres des champignons mycotoxinogènes

A) Genre *Aspergillus*

Les champignons du genre *Aspergillus* sont des moisissures cosmopolites à filaments hyalins et cloisonnés. Ils appartiennent à la division des *Ascomycotina* et à l'ordre des *Eurotiales*. Depuis la première description du genre *Aspergillus* en 1729 par Michelli, le nombre d'espèces décrites n'a cessé de croître. Dans une récente publication, (**Samson et al., 2014**) ont décrit 339 espèces morphologiquement, génétiquement et physiologiquement proches dans le genre *Aspergillus*, dont la classification taxonomique est en perpétuelle évolution depuis l'utilisation des outils moléculaires (**Gautier, 2016**). Les *Aspergillus* ont une large répartition géographique, mais ils sont plus souvent associés aux régions à climat chaud. Très répandus dans la matière organique en décomposition, dans le sol ou en surface (composts végétaux, fourrages humides, ...), *Aspergillus* se présentent 1 à 7 % des champignons environnementaux, participant au recyclage du carbone et de l'azote par métabolisme aérobie (**Castegnaro, Pfohl, 2002**). Plusieurs espèces du genre *Aspergillus* sont aussi connues pour leur capacité à produire des mycotoxines responsables de pathologies humaines et animales (mycotoxicoses) (**Samson et al., 2014**). Parmi les mycotoxines produites par ce genre, les aflatoxines (AFs) et les ochratoxines sont celles qui représentent le plus de risques pour la santé.

Certaines espèces peuvent être directement pathogènes pour l'homme et l'animal à cause de leur capacité à envahir les tissus vivants et provoquer des aspergilloses tel que les mycoses pulmonaires (Morin, 1994).

L'identification des *Aspergillus* se base principalement sur des critères morphologiques. Cependant, l'application des outils de caractérisation moléculaire a montré que cette identification strictement phénotypique pouvait conduire à des erreurs d'identification (Balajee et al., 2006). Pour tenir compte des résultats de caractérisation moléculaire, des sous genres appelées sections ont été créés. Les moisissures du genre *Aspergillus* sont actuellement réparties dans 6 sections principales : *Flavi*, *Nigri*, *Circumdati*, *Clavati* et *Fumigati* (Balajee et al., 2005).

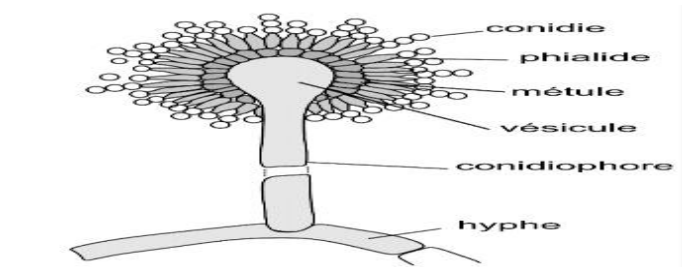


Figure 02: Schéma représentant la structure *Aspergillus* (Shamim et al., 2016).

B) Genre *Penicillium*

Penicillium est un genre bien connu des champignons ascomycètes filamenteux. Décrit pour la première fois en 1809 par Link (Jeanne et al., 2020). Taxonomiquement, il est membre de la famille des *Aspergillaceae*, dans la nature il se trouve principalement dans le sol bien qu'il ait également été détecté dans la matière organique en décomposition, les céréales, les graines et divers produits alimentaires, et est par conséquent d'une grande importance économique, le genre contient actuellement 483 espèces acceptées (Zetina et al., 2020) La majorité d'espèces de ce genre sont produire des mycotoxines (tableau2).

Tableau 02: différente espèce de *penicillium* produire les mycotoxines (**Ji pitt, 2000**).

| Espèces de penicillium | Mycotoxines produites |
|-----------------------------------|--|
| <i>Penicillium chrysogenum</i> | Acide cyclopiazonique, roquefortine C |
| <i>Penicillium citreonigrum</i> | Citréoviridine |
| <i>Penicillium crustosum</i> | Pénitrem A, roquefortine C |
| <i>Penicillium expansum</i> | Citrinine, patuline, roquefortine C |
| <i>Penicillium griseofulvum</i> | Acide cyclopiazonique, Griséofulvine, patuline, roquefortine C |
| <i>Penicillium nalgiovense</i> | Pénicilline |
| <i>Penicillium oxalicum</i> | Acide sécalonique D, roquefortine C |
| <i>Penicillium puberulum</i> | Acide Kojique, Griséofulvine |
| <i>Penicillium roquefortii</i> | Acide pénicilique, PR toxine , roquefortine C |
| <i>Penicillium rubrum</i> | Rubratoxine |
| <i>Penicillium rugulosum</i> | Rugulosine, skirine |
| <i>Penicillium simplicissimum</i> | Verrucologène, Acide pénicilique |
| <i>Penicillium vatiabile</i> | Rugulosine |
| <i>Penicillium verrucosum</i> | Ochratoxine A, citrinine |

Ces champignons présentent un thalle vert ou plus rarement blanc dont la texture est souvent utilisée comme critère de différenciation. Les conidiophores sont isolés ou groupés en faisceaux, hyalins, lisses ou granuleux, simples ou ramifiés et terminés par un pénicille. Les pénicilles sont constitués soit :

- D'un simple verticille de phialides : monoverticillé.
- D'un verticille de métules portant les phialides : biverticillé.
- De plusieurs verticilles successifs comportant des ramifications, de métules et des phialides : terverticillé, quadriverticillé...

Les phialides sont ampulliformes ou lancéolées. Les conidies peuvent être disposées en longues chaînes, globuleuses, elliptiques, cylindriques, fusiformes, lisses ou rugueuses, hyalines ou de couleur grises ou verdâtres. Dans certaines espèces, on rencontre des sclérotés, qui correspondent à la forme sexuée des champignons (**Bouchet et al., 1989**).

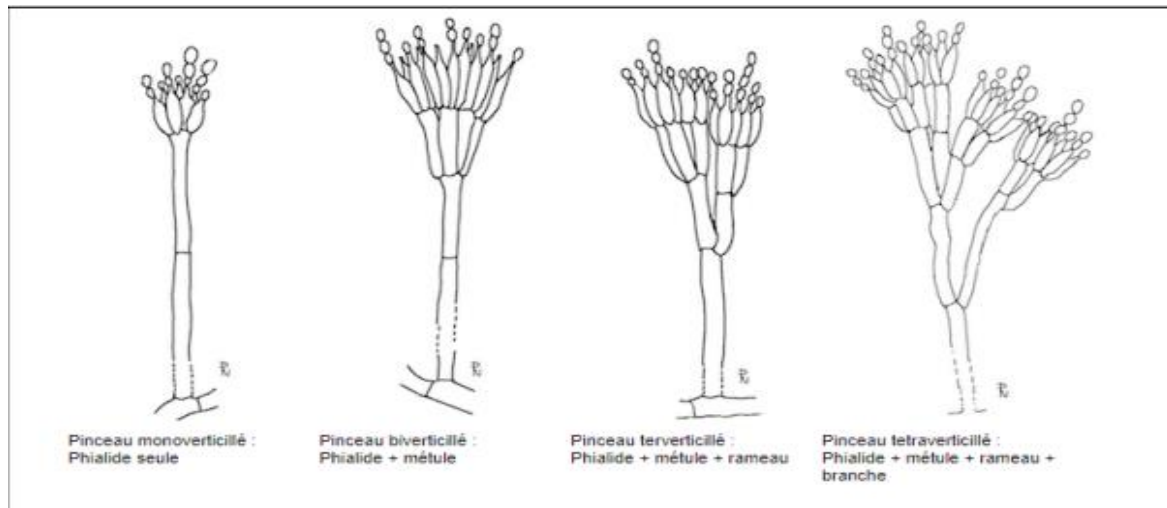


Figure 03: Les types de pénicilles (Visagie et al., 2014).

C) Genre *Fusarium*

Fusarium est un genre de champignons filamenteux cosmopolites ascomycètes (*Sordariomycetes: Hypocreales: Nectriaceae*) qui comprend de nombreux pathogènes des végétaux producteurs de toxines (Matny et al., 2018). Le nom de *Fusarium* vient du mot latin « *fusus* » car les spores de ces moisissures sont en forme de fuseau. Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées (Le Calvez, 2009).

Les *Fusarium* ont une température de croissance comprise entre 22 et 37°C (Chabasse et al., 2002). Les colonies que produisent les *Fusarium* sont planes, d'aspect cotonneux, parfois floconneux, et de couleurs claires selon les espèces elles peuvent être crème, blanche, saumon, violette, brune, jaune (Chermette et Bussieras, 1993).

Le genre *Fusarium* rassemble un grand nombre d'espèces phytopathogènes. Il a un impact économique important car c'est un contaminant de nombreuses céréales (blé, avoine, orge), de légumes et d'arbres fruitiers. Il se développe préférentiellement sur les végétaux sénescents ou stressés. Il est impliqué dans la pourriture des tiges, des fruits et du système racinaire. De par leur capacité à produire des mycotoxines, les *Fusarium* sont susceptibles de causer des infections et des intoxications graves chez l'Homme et chez les animaux, surtout d'élevage. Ces infections sont réunies sous le terme de fusarioses (Zebiri, 2020).

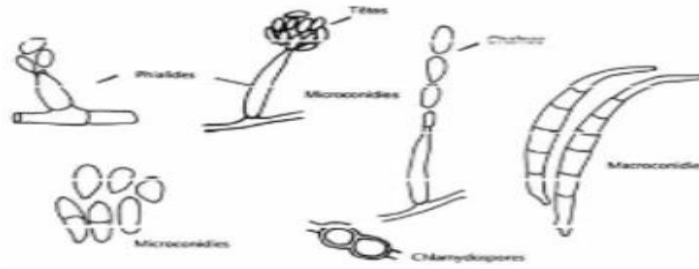


Figure 04: Aspect microscopique des conidies de *Fusarium* (Chabasse et al., 2002).

D) Genre *Alternaria*

Les champignons du genre *Alternaria* sont des *Deutéromycètes*. Cette classe renferme tous les champignons à mycélium cloisonné dont la forme de reproduction est généralement inconnue mais possèdent un mode de multiplication asexuée, par conidies (Achetbi et al., 2021).

Les *Alternaria* constituent une famille de champignons phytopathogènes pouvant se développer sur une grande diversité de végétaux. Bien que le genre soit fortement présent dans les céréales: les toxines d'*Alternaria* sont souvent négligées dans les céréales, probablement en raison de l'absence de pertes économiques importantes directement causées par le genre. Cependant, sa fréquence et sa capacité à produire une large gamme de toxines sont significatives. Par conséquent, dans cette revue, nous aborderons les récentes découvertes sur la taxonomie des espèces d'*Alternaria* et leur impact sur les céréales (Sabina et al, 2018). Ces champignons sont à l'origine de la contamination de certaines céréales et graines oléoprotéagineuses et de certains fruits et légumes par des mycotoxines comme l'alternariol (AOH), l'alternariol monométhyl éther (AME) ou encore l'acide tenuazonique (TeA). Du fait de leur présence sur les matières premières précédemment citées, ces toxines peuvent être trouvées par la suite dans des denrées telles que la bière, les jus de fruits, la farine (Canada, 2020).

Les *Alternaria* peuvent être isolés de végétaux très divers. Ils sont parasites de nombreuses plantes : plantes maraîchères, céréales, fruits, fleurs. Le stockage des graines contaminées peut favoriser l'accumulation de toxines surtout étudiées pour *Alternaria alternata*. Les *Alternaria* sont donc des champignons très communs et cosmopolites. Humidité et chaleur moyenne favorisent leur sporulation. Ils peuvent se retrouver sur des substrats très variés : plantes, sols, textiles, graines.

L'air joue un rôle important dans la dispersion des spores. Les spores d'*Alternaria* sont des allergènes. L'allergène majeur est ALTa I qui est une glycoprotéine (Linas et al., 1998).

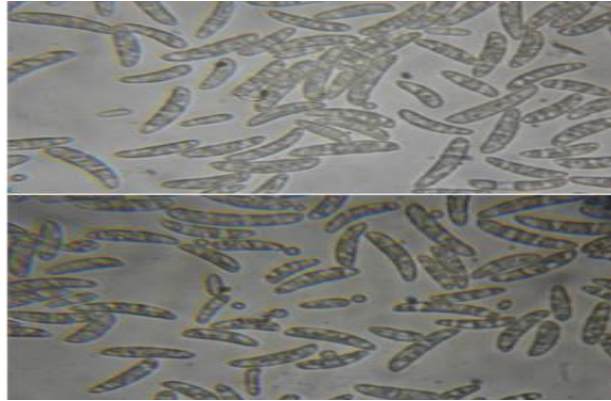


Figure 05: Spores d'*Alternaria* spp (Akhtar et al., 2017).

1. Introduction

Le mot « mycotoxine » est dérivé des mots « myco » et « toxine », provenant des mots grecs « mykes » et « toxikon », signifiant respectivement « moisissure » et « poison » produits par un organisme vivant. Ces substances représentent des métabolites fongiques secondaires qui ne sont pas essentiels à la croissance et à la reproduction normales d'un champignon, mais qui sont capables de provoquer des changements biochimiques, physiologiques et pathologiques chez d'autres espèces (**Pleadin et al., 2019**).

2. Généralités sur les mycotoxines

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires de faible poids moléculaire produits par des champignons filamenteux tels que *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* qui exercent des effets néfastes à des faibles concentrations et peuvent provoquer des maladies graves chez les humains et les animaux (**Tolosa et al., 2021; Khan et al., 2024**). Les mycotoxines les plus trouvées dans les aliments sont l'aflatoxine B₁ (AFB₁), ochratoxine A (OTA), fumonisine B₁ (FB₁), le désoxynivalénol (DON), les trichotécènes T-2 et HT-2 (T-2 et HT-2, respectivement) et la zéaralénone (ZEN) (**Tolosa et al., 2021**). Ces composés toxiques présentent des risques pour la santé tels que des effets cancérigènes, tératogènes, mutagènes, néphrotoxiques et hépatotoxiques chez les humains et les animaux (**Seo et al., 2021**).

Les mycotoxines sont des composés stables à la chaleur, ce qui signifie qu'elles peuvent survivre aux traitements thermiques traditionnels, comme la cuisson et le rôtissage (**González, 2023**). Certaines mycotoxines sont stables même à des températures très élevées (c'est-à-dire au-dessus de 200 °C), et leur degré de dégradation pendant les traitements thermiques est faible. D'autres présentent une stabilité modérée, subissant une dégradation partielle à des températures allant de 120 à 180°C (**Zapašnik et al., 2025**).

Une seule espèce de champignon peut produire plus d'une mycotoxine simultanément, et différentes espèces fongiques peuvent proliférer dans la même plante, les deux circonstances conduisant à la cooccurrence de deux mycotoxines ou plus (**Tolosa et al., 2021**).

Tableau 03. Certaines mycotoxines importantes et leurs effets sur les humains et les animaux (El-Sayed et al., 2022)

| Mycotoxines | Genre/espèce | Principaux aliments | Effets toxiques et maladies |
|--|---|---|---|
| Aflatoxines | <i>Aspergillus</i> <i>A.flavus</i> <i>A.parasiticus</i> <i>A.nomius</i> <i>Penicillium</i> | Aliments pour animaux Oléagineux et pulpe Noix de coco, Céréales | Cancérogénicité Hépatotoxicité Tératogénicité Hépatite Lésions rénales |
| Fumonisines | <i>Fusarium</i> <i>F.verticillioide</i> <i>F.culmorum</i> | Céréales, Maïs | Cancérogénicité Neurotoxicité Œdème pulmonaire Lésions hépatiques |
| Ochratoxine A | <i>Aspergillus</i> <i>A.ochraceus</i> <i>Penicillium</i> <i>P.nordicum</i> <i>P.verrucosum</i> | Céréales, Figs, Fruits Bœuf séché, herbes Oléagineux | Cancérogène Lésions hépatiques Lésions rénales Perte d'appétit |
| Patuline | <i>Aspergillus</i> <i>A.terreus</i> <i>A.clavatus</i> <i>Penicillium</i> <i>P.clavigerum</i> <i>P.griseofulvum</i> | Ensilage, Blé Aliments pour animaux Pommes,raisins,pêches abricots, olives, céréales Poires | Hémorragie cérébrale, troubles neuronaux, cancer de la peau |
| Trichotécènes (T2,DON,DAS , HT2) | <i>Fusarium</i> <i>F.oxysporum</i> <i>Cephalosporium</i> <i>Trichoderma</i> | Céréales, ensilage Aliments pour animaux Légumineuses, fruits et légumes | Immunosuppression Cytotoxicité, anémie Nécrose cutanée |
| Zéaralénone | <i>Fusarium</i> <i>F.graminearum</i> <i>F.culmorum</i> | Maïs, fourrages, ensilage Céréales | Cancérigène, tératogène Déséquilibre hormonale Problème de reproduction |

3. Mycotoxinogénèse

La mycotoxinogénèse correspond à l'ensemble des conditions nécessaires au processus de synthèse et de sécrétion des mycotoxines dans l'environnement. La production des mycotoxines et le développement fongique sont intimement liés. Dès lors, les facteurs capables d'influencer la croissance fongique joueront aussi un rôle sur la toxinogénèse. En revanche, les conditions idéales de toxinogénèse sont plus étroites que celles favorisant le développement fongique (ENNOUARI, 2020).

La présence de moisissures toxigènes dans un aliment ne signifie pas nécessairement une contamination par les mycotoxines (Aloui, 2023), car leur production par le champignon n'aura lieu sauf si les conditions environnementales favorables à cette contamination sont réunies (Krouma, 2021) et la disparition des moisissures ne garantit pas l'absence de mycotoxines, ces dernières pouvant persister en raison de leur stabilité (Aloui, 2023).

La synthèse des mycotoxines est un phénomène de grande complexité qui dépend d'une combinaison de facteurs physicochimiques et biologiques qui favorisent la colonisation des denrées et par la suite la production de mycotoxines. Cette contamination peut survenir à tous les stades de la chaîne alimentaire, depuis le champ jusqu'au stockage et transformation des aliments (Krouma, 2021).

3.1. Facteurs influençant la mycotoxinogénèse

3.1.1. Facteurs extrinsèques

3.1.1.1. Activité de l'eau (aw)

L'activité de l'eau reflète la quantité d'eau disponible dans une substance liquide ou solide. Elle permet de rendre compte de la quantité d'eau «libre», indispensable aux réactions biochimiques d'un micro-organisme. L'aw requis pour la croissance d'une moisissure est inférieur à celui requis pour la mycotoxinogénèse, alors la présence d'une moisissure dans un aliment ne signifie donc pas obligatoirement qu'on y retrouvera des toxines fongiques. L'activité de l'eau optimale pour la plupart des espèces fongiques est comprise entre 0,85 et 0,99 (ENNOUARI, 2020).

Certaines espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium* ont la capacité de se multiplier à des aw inférieurs à 0,75 et pour une température de 25°C, elles font partie des espèces xérophiles

que l'on retrouve dans les produits pauvres en eau (céréales, fruits secs) notamment au moment de la phase de stockage. En revanche, quelques espèces de *Fusarium* exigent un aw supérieur à 0,98. Il s'agit de moisissures de champs qui se développent sur les plantes endommagées ainsi que dans les milieux riches en eau (ENNOUARI, 2020).

3.1.1.2. Température

La croissance des moisissures et la production des mycotoxines sont influencées par la température. Les champignons, généralement mésophiles se développent entre 20 et 25°C. La température optimale pour la croissance fongique est généralement plus élevée que celle pour la toxinogénèse. Par exemple, *Penicillium viridicatum* producteur d'OTA se développe à des températures de 0 à 31°C tandis que l'OTA ne peut être synthétisée qu'à des températures allant de 12 à 24°C (Aloui, 2023).

3.1.1.3. Acidité du milieu (pH)

Le pH est un facteur majeur dans la croissance des moisissures et la production des mycotoxines. Les moisissures peuvent se développer dans une plage de pH allant de 3 à 8, avec une croissance optimale entre 5 et 6. Comme pour la température et l'aw, l'intervalle de pH qui permet une croissance fongique optimale est plus large que celui de la synthèse des toxines (Aloui, 2023).

3.1.1.4. Composition de substrat

Les moisissures sont des organismes hétérotrophes, se développant exclusivement sur des substrats organiques contenus dans les produits alimentaires de base (Krouma 2021). Les nutriments, dont les champignons ont besoin pour pousser, sont élémentaires et proviennent de matières organiques en décomposition. Les enzymes catabolisent le substrat pour former les nutriments requis, qui seront ensuite absorbés au travers des membranes cellulaires des moisissures. Ces molécules sont des sucres simples, des fractions d'amidon, des peptides et des substances carbonées (comme les acides aminés). La toxinogénèse dépend fortement de la composition chimique du substrat sur lequel le champignon prolifère. Par exemple, l'acide phytique (souvent présent dans les céréales) diminue la synthèse d'aflatoxines par *A. parasiticus* et *A. flavus*. À l'inverse, certains acides aminés (comme la proline) stimulent cette production (ENNOUARI, 2020).

3.1.1.5. Composition gazeuse

La production de toxines fongiques est plus sensible à la variation de composition gazeuse que la croissance fongique. Une concentration en oxygène inférieure à 1 % et des concentrations élevées de dioxyde de carbone empêchent la synthèse de toxines. (ENNOUARI, 2020).

En plus de diminuer la synthèse de FB1, le taux d'O₂ affecte également la croissance de *Fusarium proliferatum*. Ainsi, l'absence de dioxygène rend indécélable la synthèse de fumonisine B1 (ENNOUARI, 2020).

3.1.1.6. Interactions entre micro-organismes

La présence simultanée, dans le même milieu, de micro-organismes dits de «concurrence» (bactéries ou champignons) perturbe le développement fongique et la synthèse de toxines. Cela s'explique par la possible destruction de la toxine par une autre souche et par la compétition pour le substrat. Certains micro-organismes peuvent aussi modifier les conditions environnementales, les rendant ainsi défavorables pour la toxinogénèse. De cette manière, il existe une compétition entre *A. ochraceus* et *A. flavus*. Lorsque ces deux moisissures sont en présence, on observe une augmentation de la production d'aflatoxines, tandis que les ochratoxines sont peu sécrétées voire totalement absentes. Ce phénomène s'explique par la monopolisation de la source de phénylalanine par *A. flavus*. L'OTA étant un analogue structural de cet acide aminé, elle ne peut alors plus être synthétisée (ENNOUARI, 2020).

3.1.1.7. Présence d'acariens et insectes

Insectes et acariens sont des vecteurs de dissémination de spores de moisissures, qu'ils introduisent à l'intérieur du grain par les dommages qu'ils créent. Une infestation par les insectes (asticots, larves de Coléoptères) favorise la prolifération de micromycètes ainsi que la production de toxines. Les insectes détruisent l'enveloppe extérieure des grains, facilitant ainsi la pénétration des moisissures à l'intérieur des grains. Les acariens, vivant sur les céréales atteintes, récupèrent et transportent les spores de champignons sur leur corps et également dans leur tube digestif et déjections. Par conséquent, la contamination des grains sains se produit lorsque des acariens arrivent en contact avec ces grains. Ils interviennent aussi bien avant la récolte qu'au cours de la conservation.

Il convient de noter que les oiseaux et les rongeurs interfèrent de manière similaire. Ainsi, l'infestation de l'arachide, du coton et du maïs, par *A. flavus* avant la récolte, est souvent liée à l'agression du végétal par des insectes (ENNOUARI, 2020).

3.1.1.8. Pratiques agricoles

Les pratiques telles que le labourage, la rotation des cultures et l'alternance de fongicides participent à rompre le cycle de vie des organismes nuisibles, souvent très spécifiques. Les mesures de stockage jouent également un rôle dans le possible développement des toxines fongiques. (ENNOUARI, 2020).

3.1.2. Facteurs intrinsèques

Ce sont l'ensemble des facteurs qui sont directement liés à la souche elle-même, comme la vitesse de croissance, la capacité de dissémination, la dispersion des spores ou encore la longévité des spores. Ce sont tous les facteurs qui constituent le potentiel infectieux fongique influençant la synthèse de toxines dans un milieu déterminé (ENNOUARI, 2020).

4. Mycotoxines dans les denrées alimentaires

Les mycotoxines peuvent être trouvées dans une variété de produits agricoles et alimentaires très importants. Les principales sources d'exposition humaine sont les céréales et les produits à base de céréales qui peuvent être contaminés déjà sur le terrain ou pendant le stockage. En raison de la contamination secondaire, les mycotoxines peuvent souvent être présentes dans les aliments d'origine animale produits à partir d'animaux exposés à des mycotoxines, ces derniers étant le plus souvent des abats comestibles, de la viande et des produits carnés, du lait et des produits laitiers, et des œufs (Pleadin et al., 2019).

1. Origine et définition

L'ochratoxine A (OTA) est un type de mycotoxine couramment trouvée dans les denrées alimentaires agricoles telles que les céréales et leurs dérivés, les grains de café, les fruits secs de la vigne, le vin et le jus de raisin, les épices et la réglisse, est présente dans le monde entier. Les espèces fongiques filamenteux microscopique des genres *Aspergillus* et *Penicillium* qui sont des champignons de stockage qui tendent à contaminer les denrées alimentaires pendant leur stockage sauf dans le cas de raisins qui se contaminés pendant la récolte ; sont connues pour être les principaux producteurs d'OTA (Nugraha et al., 2024). L'OTA à été découverte la première fois en 1965, par un groupe de chercheurs Sud-africains à partir d'un isolat d'*Aspergillus ochraceus* dans une farine de maïs (Van der Merwe et al., 1965).

Parmi les différentes espèces appartenant au genre *Aspergillus* on distingue : *Aspergillus carbonarius* et *Aspergillus ochraceus*, au genre *Penicillium* : *P. viridicatum* (Amani, 2016).

2. Structure

Les ochratoxines sont des dérivés de la phénylalanine. L'OTA est un métabolite secondaire constitué d'une molécule de 3-méthyl-5-chloro-8-hydroxy-3,4-dihydrocoumarine couplée, par une liaison amide à la L-phénylalanine. La formule brute de l'OTA est: C₂₀H₁₈ClNO₆ (Abdelali, 2019). Jusqu'à présent, il existe trois ochratoxines appelées OTA, OTB et OTC naturelles reconnues (Figure 06).

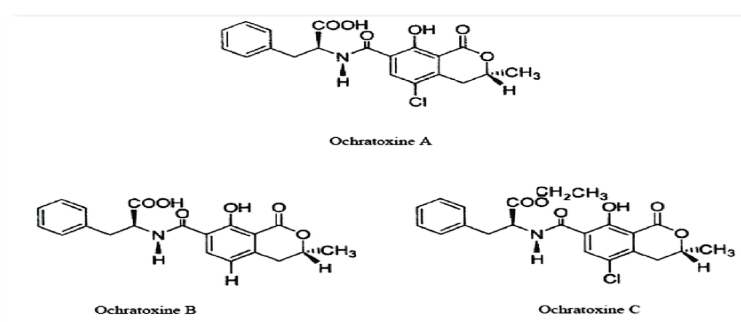


Figure 06: structure chimique des ochratoxines (Gacem, 2011).

3. Propriétés physico-chimiques de l'Ochratoxine A

L'OTA est un acide organique de faible puissance avec une valeur de pKa de 7,1. Il s'agit d'un cristallin blanc robuste avec une masse molaire de 403,8 g/mol (Bouti, 2021). À des pH neutres et acides, l'OTA se dissout dans les solvants organiques polaires mais présente une faible solubilité dans les solutions aqueuses. À un pH alcalin, elle se dissout dans les solutions

aqueuses de bicarbonate de sodium et en règle générale, dans les solutions aqueuses alcalines. Lorsqu'elle est cristallisée dans le benzène, son point de fusion se situe à 90°C, tandis que dans le xylène, il atteint 169°C (**Abdelali, 2019**).

Sous lumière ultraviolette, l'OTA libère une fluorescence marquée : elle brille en vert dans un environnement acide et en bleu dans un milieu alcalin (**Moez, 2019**). C'est cette fluorescence qui a donné naissance aux techniques de détection et de quantification de l'OTA (**Azemar, 2001**). L'OTA supporte facilement les méthodes industrielles de transformation. Elle est partiellement dégradée lors d'une cuisson normale (**Abdelali, 2019**), mais elle est entièrement détruite par des solutions d'hypochlorite de sodium (**OMS, 2001**). Par contre, l'OTA est instable à la lumière et à l'air, elle se dégrade même après une brève exposition à la lumière essentiellement dans des conditions humides. Cependant, elle est résistante à l'acidité et aux hautes températures. L'OTA peut résister à 3 heures d'autoclave à 121° (**RHOUATI, 2012**).

Tableau 04: Propriétés chimiques et physiques les plus importantes de l'OTA. (**RHOUATI, 2012**).

| | |
|---------------------------|---|
| Masse moléculaire | 403,81 g/mol |
| Constante de dissociation | Acide organique faible (7,1) |
| Structure | Cristal incolore |
| Solubilité | pH neutre et acide : soluble dans les solvants organiques. polaires (alcools, cétones, chloroforme). pH alcalin : soluble dans toutes les solutions alcalines en général. |
| Stabilité | Haute stabilité: résistance aux acides et à la température Moyenne |
| Fluorescence | Milieu acide : Verte Milieu alcalin : Bleue |

4. Méthode d'analyse de l' ochratoxine A dans les aliments

Plusieurs méthodes d'analyse permettant de déterminer l' OTA ont été rapportées. Ces méthodes impliquent généralement l'extraction et la détection de la toxine (**Huybrechts et al., 2013**).

a) **Extraction**

Lors de l'extraction de l'OTA à partir d'un échantillon, on utilise divers solvants tels que le mélange dichloro-méthane-acide citrique, l'acéto-nitrile-eau, le méthanol-acide phosphorique et le méthanol-chlorure de sodium (**Zebiri, 2020**). On utilise souvent une procédure de purification qui emploie généralement une extraction en phase solide via des colonnes comme celles d'immuno-affinité (IAC). De nombreuses IAC commerciales ont été mises au point pour l'isolement de l'OTA à partir de diverses matrices alimentaires (**Meulenberg, 2012**).

b) **Détection**

Une fois la toxine extraite, purifiée et concentrée, une combinaison de procédures chromatographiques avec diverses méthodes de détection (méthodes immunochimiques) peuvent être utilisées pour la détection et quantification (**Zebiri, 2020**). L'OTA, qui est issue d'un acide isocoumarinique associé à une L-phénylalanine, présente une activité optique et des caractéristiques fluorescentes. Ainsi, les méthodes chromatographiques sont souvent considérées comme des techniques de référence (**RHOUATI, 2012**).

➤ **la chromatographie sur couche mince (CCM)**

La CCM était la méthode traditionnelle la plus utilisée pour une analyse quantitative ou semi-quantitative de l'OTA (**Turner, 2009**). Cela est dû à son faible coût et à l'identification facile des composés cibles en utilisant l'analyse spectrale UV-vis (**RHOUATI, 2012**). La séparation est effectuée en utilisant une phase stationnaire de silice et une phase mobile composée de différents solvants organiques (chloroforme, méthanol ou éthanol, toluène/acétate d'éthyle) (**Hend, 2005**). La CCM présente l'intérêt de pouvoir détecter plusieurs toxines simultanément, mais les limites de détection sont trop élevées pour détecter des teneurs définies par les réglementations (**Riba, 2008**).

➤ Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La technique analytique la plus couramment utilisée pour la détermination de l'OTA est HPLC couplée à une détection fluorimétrique (FD), grâce à la fluorescence naturelle de l'OTA. L' HPLC est également appropriée à la détermination de l'OTA dans les matrices complexes (alimentation animale, café, sang et lait) (Huybrechts et al., 2013) après une étape de purification. Le système HPLC nécessite l'utilisation d'une colonne analytique de type C-18, 5 µm et d'une phase mobile, délivrée à un débit de 1 ml/min, est composée d'acétonitrile/eau/acide acétique (99:99:2, v/v/v). L'acidification de la phase mobile est indispensable sinon l'OTA est éluée avec le front de solvant. La détection par fluorescence est possible directement, sans dérivation. (Hend, 2005 ; RHOUATI, 2012). Cette méthode est recommandée par l'Association Officielle des Chimistes Analytiques (A.O.C.A) pour la détermination de l'OTA dans les céréales (Zebiri, 2020).

- D'autres méthodes utilisent les techniques immunochimiques (RIA, ELISA) permettant une détection qualitative ou semi-quantitative.

5. Champignons ochratoxinogènes dans le blé, d'orge et d'avoine

L'OTA est produite par une vaste variété d'espèces appartenant aux genres *Aspergillus* et le genre *Penicillium* (Makhlouf, 2019).

5.1. *Aspergillus*

Les moisissures du genre *Aspergillus* sont réparties à plusieurs sections (sous-genres) principalement : *Flavi*, *Nigri*, *Circumdati*.

5.1.1 *Aspergillus* section *flavi*

Aspergillus section *Flavi* est un groupe diversifié de champignons qui est important pour sa capacité à produire des aflatoxines et d'autres métabolites secondaires (acide cyclopiazonique et la sterigmatocystine), sont généralement caractérisés par leur production de conidies jaunes à brunâtres (spores asexuées) et leur capacité à se développer à des températures élevées (jusqu'à 45 °C) (Sissinto Adjovi et al., 2025).

Phylogénétiquement, la section *Flavi* est divisée en huit clades (*A. alliaceus*-, *A. avenaceus*-, *A. bertholletius*-, *A. coremiiformis*-, *A. flavus*-, *A. leporis*-, *A. nomius*- et *A. tamaris-clade*) et la section contient actuellement 33 espèces (Frisvad et al., 2019).

5.1.1.1. *Aspergillus flavus*

A. flavus est le membre le plus connu de la section *Aspergillus Flavi* et se trouve couramment dans le sol, les débris végétaux et les céréales stockées. Il est connu pour sa capacité à produire des aflatoxines, qui peuvent contaminer les cultures vivrières et animales et constituer des risques pour la santé humaine et animale (Sissinto Adjovi et al., 2025).

➤ Caractères cultureux

A. flavus forme des colonies duveteuses à poudreuses, d'abord blanches, puis jaune, puis vert-jaune. Le revers peut être incolore, rosâtre ou brun-rouge foncé pour les souches productrices de sclérotés.

➤ Morphologie microscopique

Les colonies sont vert-jaune, relativement planes avec une marge blanche de 1 à 2 mm. Les revers sont incolores à jaunâtres. Les conidiophores sont longs et rugueux. Les têtes aspergillaires sont majoritairement radiées et bisériées (2 rangées de stérigmates) et splittent en vieillissant. Quelques têtes en colonne peuvent être présentes dans le mycélium aérien. La vésicule est sub-globeuse (10 à 65 µm de diamètre). Les conidies sont oblongues et lisses ou légèrement rugueuses (3,5 à 4,5 µm). La production de sclérotés est possible. Cette espèce peut produire des aflatoxines de type B et de l'acide cyclopiazonique (CPA) (Frisvad et al., 2019).

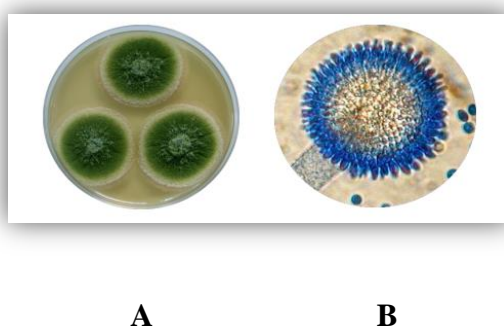


Figure 07: Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) d'*Aspergillus flavus*, après culture sur MEA à 25°C pendant 5 jours (Makhlouf, 2019).

5.1.1.2 *Aspergillus alliaceus*

A. alliaceus est l'espèce anamorphe appartenant à *Aspergillus* section *Flavi* productrice d'OTA (Frisvad et al., 2019). *A. alliaceus* est trouvé en grande partie dans les échantillons de

sol. Les colonies de couleur chamois clair à brun gingembre, spores jaunes et des corps sclérotiques noirs (Figure 8). Son téléomorphe associé est *Petromyces alliaceus* (Zebiri, 2020).



Figure 08 : Aspect macroscopique d'*Aspergillus alliaceus* sur milieu CYA(Zebiri, 2020).

5.1.2. Section *Circumdati*

La section *Aspergillus circumdati* ou le groupe *Aspergillus ochraceus* comprend des espèces à stipes avec des parois rugueuses, à têtes conidiennes bisériées, et des conidies jaunes à ocres ainsi que des sclérotés qui ne noircissent pas, qui peuvent se développer sur la plupart des milieux de culture classiques (Visagie et al., 2014). Ces moisissures sont également connues pour la production d'aspergamides, de notoamides, de norgeamides; parmi lesquels plusieurs composés sont anticancéreux prometteurs (Finfield et al., 2012).

Cette section qui comprends 27 espèces, parmi lesquelles 20 espèces sont particulièrement connues par la production de l'Ochratoxine A (Laouni, 2024). Les espèces les plus importantes en ce qui concerne la contamination potentielle par l'OTA dans les produits agricoles sont *A. ochraceus*, *A. steynii* et *A. westerdijkiae* (Zebiri, 2020).

5.1.2.1. *Aspergillus ochraceus*

C'est une moisissure des céréales, le plus important producteur d'OTA du genre *Aspergillus*.

➤ Caractères cultureux

Ce champignon pousse rapidement (2-3 jours) sur les milieux de culture classiques à une température de 25 à 30°C. Les colonies d'*A. ochraceus* sont poudreuses ou granuleuses, blanches au début, puis jaunes ou ocre-jaunes à chamois. Le revers de colonies est incolore au jaune pâle.

➤ Morphologie microscopique

Les têtes conidiennes sont bisériées, d'abord globuleuses puis se séparent en 2 ou 3 colonnes divergentes, bien individualisées, de couleur jaune, ocre-jaune ou chamois. Les conidiophores sont rugueux, jaunes à brun pâle, longs atteignant 1,5 mm. Les vésicules sont globuleuses, hyalines, 3050 µm en diamètre. Les phialides (7-10 x 2-3,5 µm) sont portées par des métules, de dimensions variables. Les conidies sont sub-globuleuses à globuleuses. Elles mesurent 2,5-3 µm de diamètre, sont finement échinulées ou lisses. Les sclérotés, souvent présents, de couleur lavande à pourpre, sont globuleux, ovales ou cylindriques, et atteignent 1mm de diamètre (Zebiri, 2020).

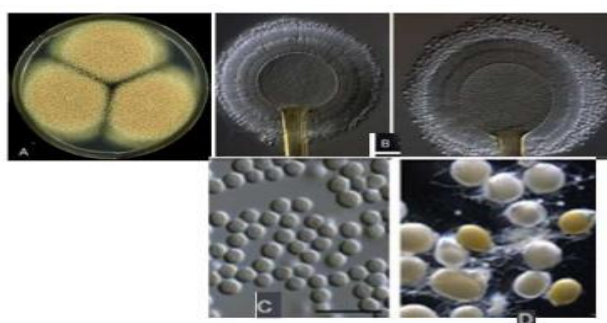


Figure 09: *Aspergillus ochraceus*. A. aspect macroscopique: culture de 7 jours sur CYA. B-D. Aspect microscopique: B. la tête conidienne. C. conidies. D. sclérotés (Frisvad et al., 2019).

5.1.3. Section *Nigri*

Parmi les champignons filamenteux, *Aspergillus* section *Nigri* est un groupe qui joue un rôle très important en bioindustrie. Plusieurs souches de cette section sont utilisées dans l'industrie des fermentations pour la production d'acides et d'enzymes d'hydrolyse. *Aspergillus awamori* et *A. niger* sont utilisées pour la production d'enzymes extracellulaires (amylases et lipases) et d'acides organiques (acide citrique et gluconique), utilisés comme additifs alimentaires. Cependant, la production de l'OTA par les *aspergillis* noirs dont *A. niger* et *A. carbonarius* n'est pas sans importance, car ce groupe de champignons est très répandu dans les aliments. En effet, parmi les champignons rencontrés dans les denrées alimentaires, *A. niger* est le plus répandu dans les climats chauds, que ce soit au champ ou durant le stockage. *A. niger* est également rencontrée dans les céréales et les graines oléagineuses notamment le maïs, le blé, le riz stocké et échaudé, l'orge, le soja, le sorgho et l'avoine (Azzone, 2011).

La taxonomie de la section *Nigri* est la plus complexe du genre *Aspergillus*. Elle comprend 6 espèces : *A. carbonarius*, *A. japonicus*, *A. ellipticus*, *A. heteromorphus*, *A. niger* et *A. tubingensis* (Houissa, 2020).

5.1.3.1. *Aspergillus carbonarius*

A. carbonarius est un champignon filamenteux noir appartenant à cette section qui colonise les grains de céréales (Joint et al., 2001; Riba et al., 2008). Son aspect macroscopique ne permet pas sa différenciation des autres blacks *Aspergilli*, dues aux ressemblances morphologiques (macroscopiques) entre les champignons noirs. Effectivement, La culture d'*A. carbonarius* et *A. niger* sur le milieu CYA engendre l'apparition de cultures noires, ne montrant aucune différence apparente entre les deux espèce (Zebiri, 2020).

➤ Morphologie microscopique

A. carbonarius c'est un champignon bisérié ayant des conidiophores lisses de 2 à 3 µm de longueur, des vésicules sphériques de diamètre 60 à 90 µm, les métules sont de 12 à 18 µm et de très larges conidies de 6 à 8 µm de diamètre, noire et très rugueuse (El Khoury, 2017).

5.1.3.2. *Aspergillus niger*

Ce champignon pousse rapidement (2-3 jours) sur les milieux de culture classiques (géloses au malt et Sabouraud). La température optimale de croissance varie généralement entre 25 et 30°C, mais *A. niger* peut se développer jusqu'à 42°C. Les colonies d'*A. niger* sont granuleuses, blanches au début, puis jaunes et, à maturité, elles deviennent noires. Le revers des colonies est incolore ou jaune pâle. Sur le milieu Czapek, *A.niger* forme des colonies à mycélium blanc ou jaune, et revers souvent incolore (figure 10) (Quatresous, 2011).

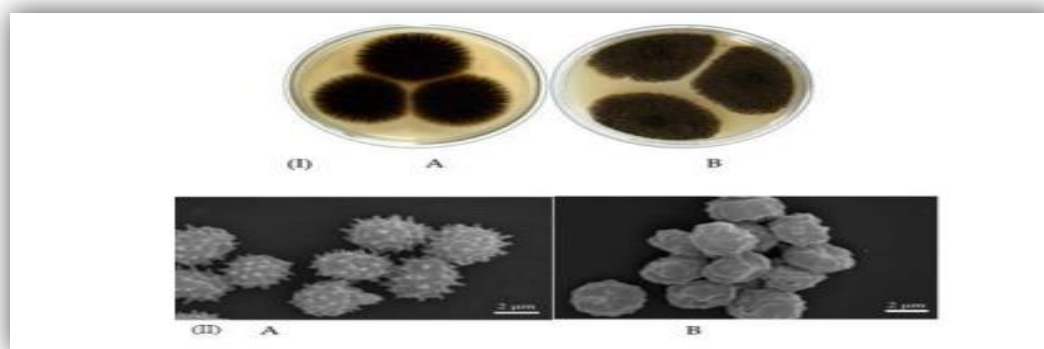


Figure 10: (I) Culture sur milieu CYA de (A) *A. niger*, (B) *A. carbonarius*. (II) Aspect microscopique des Conidies de (A) *A. carbonarius* et (B) *A. niger* (Zebiri, 2020).

➤ Morphologie microscopique

La multiplication de cette espèce est végétative. Il n'y a pas de reproduction sexuée connue. On observe alors des têtes conidiennes larges, brun-rouge très sombre à noir, tout d'abord sphériques et secondairement radiées. Elles sont portées par de longs conidiophores (1,5 à 3 mm de long) qui présentent une paroi épaisse, lisse et incolore. La vésicule est globuleuse, brune, et de grande taille (40 à 70 μm de diamètre) (**Quatresous, 2011**). Les phialides (7-10 x 3-3,5 μm) sont portées par des métules brunâtres, de dimensions variables (10-15 μm). Les conidies sont habituellement globuleuses, parfois légèrement aplaties de couleur brunâtre et qui mesurent 3,5 à 4,5 μm ; parfois jusqu'à 6 μm de diamètre (**Pasqualotto, 2010**).

5.2. *Penicillium*

Penicillium nordicum et *P. verrucosum* sont considérés comme des grands producteurs de l'OTA sur les céréales.

➤ Morphologie microscopique

La caractérisation de *P. verrucosum* et *P. nordicum* peut être évaluée selon des critères morphologiques, moléculaires et métaboliques. Sur le plan morphologique, ces deux moisissures présentent de très nombreuses similitudes. Si elles sont aisément reconnaissables au sein des *Penicillium*, il est néanmoins délicat de les différencier microscopiquement puisque les deux espèces présentent les mêmes pinceaux asymétriques terverticillés ainsi que des conidiophores rugueux avec spores globuleuses lisse (**Zebiri, 2020**).

6. Toxicité de l'OTA

L'ochratoxine A est une mycotoxine fréquemment présente dans divers aliments et aliments pour animaux (**Khoi et al., 2021**) et présente un risque important pour la santé humaine (**Banahene et al., 2024**). L'OTA est considérée comme génotoxique, néphrotoxique (lésions rénales), cytotoxique, cancérigène, tératogène (perturbation du développement du fœtus ou de l'embryon dans l'utérus) connue par sa capacité à traverser le placenta ce qui entraîne des lésions cérébrales et une malformation du système nerveux centrale, mutagène et immunotoxique (**Mwambulili et al., 2023**).

L'OTA est répertorié comme un agent cancérigène humain possible dans le groupe 2B par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC). Il existe des preuves soutenant son implication dans la pathogenèse du carcinome gastrique (**Zhang et al., 2024**).

Dans certaines régions, l'OTA a été soupçonnée d'être la cause de la néphropathie endémique des Balkans (BEN). Le BEN est une maladie rénale chronique qui peut entraîner une insuffisance rénale irréversible. La maladie se caractérise par le développement de tumeurs des voies urinaires chez environ 38 à 40 % des patients atteints de BEN (**Mwabulili et al., 2023**)

7. Contamination des aliments

L'OTA est la toxine le plus courant contaminant divers aliments et aliments pour animaux dans le monde. L'OTA est présente dans divers aliments et aliments pour animaux, tels que les haricots, les grains de café, les céréales, les produits à base de cacao, les fruits secs, le vin, le poisson, les œufs, la volaille, le lait, la viande et les produits à base de viande, le riz, le blé, les noix, les herbes médicinales et les épices. La contamination des produits agricoles peut se faire soit dans le champ lors de la récolte, soit lors de la transformation, du stockage et du transport (**Kumar et al., 2020**).

Tableau 05: Présence d'OTA dans les produits alimentaires de divers pays (**Banahene et al., 2024**).

| Pays | Marchandise/Produit alimentaire | % contaminés | OTA (µg/kg) |
|---------|---------------------------------|----------------|---------------|
| Algérie | Blé | 76,54 % sur 81 | 0.84–34.75 |
| | Aliments à base de céréales | 16,9 % sur 71 | 0.06–0.2 |
| Canada | Blé | 2,2 % sur 250 | 6.8–22.6 |
| | Cacao et chocolat | 100 % sur 60 | 0.05–7.8 |
| Chine | Lait pasteurisé | 25,8 % sur 120 | >0,049 à 18,8 |
| | Maïs | 1,6 % sur 426 | 0–5 |
| Égypte | Orge | 20 % sur 15 | 1.13–2.15 |

| Pays | Marchandise/Produit alimentaire | % contaminés | OTA (µg/kg) |
|------------|---------------------------------|----------------|-------------|
| Italie | Fromage | 26,3 % sur 57 | 1.7–7.2 |
| | Lait | 36,4 % sur 33 | <0,3 à 3,0 |
| | Salami | 12,8 % sur 172 | 0.07–5.66 |
| | Vin | 71,9 % sur 57 | 0.13 |
| Maroc | Fruits secs | 17,1 % sur 210 | 0.8–99.1 |
| Espagne | Bière | 20 % sur 40 | 0.24–54.76 |
| Tunisie | Sorgho | 37,5 % sur 64 | 1.04–27.8 |
| ÉTATS-UNIS | Raisins secs | 93 % sur 40 | 0.06–11.4 |
| | Orge | 6 % sur 60 | 0.16–185.24 |
| | Blé | 13 % sur 58 | 0.17–14.94 |

8. Réglementation d'OTA dans les denrées alimentaires

Compte tenu du risque pour la santé des consommateurs, de nombreux gouvernements nationaux et organisations internationales ont établi des limites réglementaires pour l'OTA dans les produits alimentaires. (Zhang et al., 2024)

La limite autorisée pour les aliments destinés à la consommation humaine varie à l'échelle mondiale, allant de 0,5 à 20 µg/kg. L'UE a mis en place des limites réglementaires strictes pour l'OTA dans divers produits alimentaires. Par exemple, les céréales, le café torréfié et le vin ont des concentrations maximales de 3,5 et 2 µg/kg, respectivement. L'agence de réglementation brésilienne ANVISA a établi des niveaux tolérables de mycotoxines, y compris l'OTA. Cependant, de nouvelles réglementations durcissent progressivement les normes. Il est intéressant de noter que la FDA manque de directives spécifiques concernant la présence d'OTA dans les aliments aux États-Unis. Au lieu de cela, les États-Unis s'appuient sur des normes établies par d'autres régions pour la réglementation des OTA. De plus, la Commission du Codex Alimentarius, par l'intermédiaire du Comité du Codex sur les contaminants dans les aliments du Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires

et de Santé Canada, a proposé des limites réglementaires pour une gamme de produits alimentaires. (Banahene et al., 2024)

Tableau 06: Limites réglementaires pour la présence d'OTA dans divers produits et produits alimentaires (Banahene et al., 2024).

| Région/Organisation | Marchandise/Produit alimentaire | Limite OTA (µg/kg) |
|---------------------|--|--------------------|
| UE | Poudre de cacao | 3.0 |
| | Café | 3.0-5.0 |
| | Raisin, jus de raisin et vin | 2.0 |
| | Fruits secs | 2.0-8.0 |
| | Céréales et produits dérivés de céréale | 3.0-5.0 |
| | Aliments dérivés de céréale pour nourrissons | 0.5 |
| Brésil | Fèves de cacao | 10.0 |
| | Café | 10.0 |
| | Cacao et chocolat | 5.0 |
| | Fruits secs | 10.0 |
| | Raisin, jus de raisin et vin | 2.0 |
| | Maïs et aliments dérivé du maïs | 20.0 |
| | Céréales et aliments dérivés de céréale | 10.0 |
| | Aliments dérivés de céréale pour nourrissons | 2.0 |
| Canada | Céréales crues/ non transformées | 5.0 |
| | Son de blé | 7.0 |
| | Aliments à base de céréale pour nourrisson | 0.5 |
| | Céréales pour la consommation directe | 3.0 |
| | Produits céréaliers drivés | 3.0 |
| Codex | Blé cru | 5.0 |
| | Orge | 5.0 |
| | Seigle | 5.0 |

1. Introduction

Les céréales sont des plantes appartenant à la famille des *Poacées* qui sont cultivées et dont les graines, grâce à leur nombre et leur composition, jouent un rôle essentiel dans l'alimentation des humains et des animaux. Une dizaine d'espèces végétales sont concernées par les graines alimentaires. L'orge, le blé et l'avoine demeurent les plus couramment utilisées (**Gacem et al., 2011**). Les céréales sont des compositions de peptides et de glucides contenant entre 10% et 13% d'éléments protéiques divers, susceptibles de provoquer des allergies ou d'être toxiques (**Saadum et al., 2002**).

2. Blé

Actuellement dans le monde, le blé est la céréale la plus cultivée et la plus consommée (**Saadoun-Cousin et al., 2002**). C'est une céréale importante dans notre consommation et une source importante de protéines pour l'alimentation humaine (**Battais et al., 2007**).

Le terme générique « blé » désigne à la fois les différentes espèces du genre *Triticum* et le grain. (**Matterne et al., 2024**). Les Blés sont subdivisés en trois groupes selon le nombre chromosomique (hexaploïde, tétraploïde et diploïde) (**Sabrina et al., 2020**).

(1) : $2n=42$ *Triticum aestivum* (blé tendre).

(2) : $2n=28$ *triticum dicoccum* (Amidonier), ici on trouve *Triticum durum* (blé dur).

(3) : $2n=14$ *Triticum monococcum*.

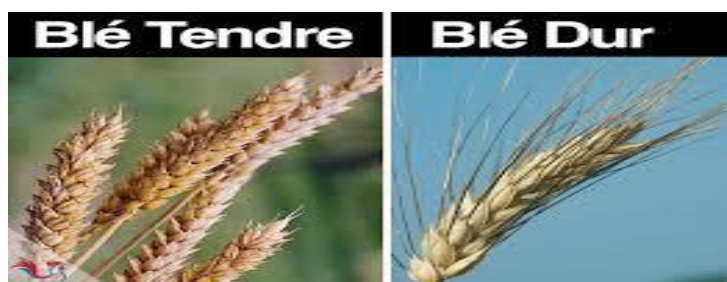


Figure 11: Images représentative du blé dur et tendre (**Francois, 2014**).

2.1. Taxonomie

La classification botanique du blé est mentionnée dans le tableau 07.

Tableau 07: Classification botanique du blé (Boukrane, 2020).

| | |
|---------------------|--|
| Règne | <i>Plantae</i> |
| Embranchement | Spermaphytes |
| Sous embranchements | angiospermes |
| Classe | Monocotylédones |
| Ordre | Poales |
| Famille | Poaceae (Gramineae) |
| Genre | Triticum |
| Espèce | <i>T. durum</i> pour le blé dur <i>T. aestivum</i> pour le blé tendre |

3. Ogre

L'orge (*Hordeum vulgare.*) est une céréale importante cultivée, se classant au quatrième rang dans la production céréalière après le maïs, le blé et le riz (Qiqian et al., 2024).

L'orge est classée en deux types selon leur utilisation : l'orge alimentaire et l'orge brassicole (Debalke et al., 2025). L'orge alimentaire est couramment utilisée pour préparer du pain, des soupes, des ragoûts et du fourrage pour animaux (Seyed et al., 2022), tandis que l'orge brassicole sert d'ingrédient essentiel dans la production de boissons alcoolisées telles que la bière (Debalke et al., 2025).

3.1. Taxonomie

La classification botanique d'orge est mentionnée dans le tableau 08

Tableau 08: Classification botanique d'orge (Benseman, 2015).

| | |
|---------------------|------------------------|
| Règne | <i>Plantae</i> |
| Embranchement | Spermaphytes |
| Sous embranchements | Angiospermes |
| Classe | Monocotylédones |
| Ordre | Poales |
| Famille | Poaceae (Gramineae) |
| Sous famille | Hordeoideae |
| Genre | Hordeum |
| Espèce | <i>Hordeum vulgare</i> |

4. L'avoine

Comme toutes les autres céréales, l'avoine (*Avena sativa*) fait partie de la famille des *Poacées* (Arendtet et Zannini, 2013). L'avoine est une plante rustique; qui pousse dans les zones tempérées et est principalement cultivée pour son fourrage vert (parties aériennes et paille) (Nathalie, 2013). Elle est également utilisée pour son grain, qui sert à la nutrition animale, humaine et à l'industrie. C'est la septième céréale la plus significative sur le plan économique, après le maïs, le riz, le blé, l'orge, le sorgho et le millet (Singh et Hari, 2016).

4.1. Taxonomie

La classification botanique d'avoine est sur le tableau 09.

Tableau 09: classification d'avoine (INPN).

| | |
|---------------------|---------------------|
| Règne | <i>Plantae</i> |
| Embranchement | Spermaphytes |
| Sous embranchements | Angiospermes |
| Classe | Monocotylédones |
| Ordre | Poales |
| Famille | Poaceae (Gramineae) |
| Genre | <i>Avena</i> |
| Espèce | <i>Avena sativa</i> |

5. Production mondiale des céréales

La FAO a légèrement modifié à la baisse (de 1,1 million de tonnes) ses prévisions relatives à la production mondiale de céréales pour l'année 2024. Le volume mondial de production céréalière est désormais évalué à 2 848 millions de tonnes (FAO, 2025).



Figure 12: Production mondiale des céréales et utilisation des stocks (2014-2025).

6. Production des céréales en Algérie

En Algérie, les céréales et leurs produits jouent un rôle crucial dans l'alimentation humaine, particulièrement la semoule (couscous et pâtes) ainsi que la farine (pain, gâteaux...). L'augmentation de la consommation globale est plus marquée en raison des prix des céréales maintenus par l'État, ce qui permet à une grande partie de la population de garantir son approvisionnement alimentaire. L'OAIC (Office Algérien Interprofessionnel des Céréales), une centrale d'achat nationale publique, contrôle presque entièrement les importations de céréales en Algérie, garantissant plus de 80% de ces dernières. (Zebiri, 2020).

La production algérienne des céréales en 2024 est 3,069 millions d'hectares seront dédiés aux céréales cette année. Parmi ces terres, 1,6 million d'hectares (52% de la superficie) seront alloués au blé dur et un million d'hectares à l'orge (32,5% de la superficie). Ensemble, ces deux céréales représenteront environ 85% de la superficie plantée. Les terres restantes seront utilisées pour le blé panifiable et l'avoine (l'USDA, 2024).

Partie expérimentale

Matériel et méthode

1. Matériel

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie du complexe des laboratoires pédagogiques à l'université Abbes Laghrour Khenchela durant la période allant du mois d'avril au mois de mai 2025.

La démarche suivie dans cette étude est la suivante :

- Collecte des échantillons.
- Isolement et dénombrement de la flore fongique.
- Etude du pouvoir producteur de l'ochratoxine A (OTA).

1.1. Echantillons

Au cours de cette étude 48 échantillons de céréales on vrac (blé, orge, avoine) ont été collectés dans différents points de vente de la wilaya de khenchela (Khenchela centre, Kais, El Hamma, Yabous). Les prélèvements ont été pris d'une façon aléatoire, mis dans des sacs en plastique stériles et acheminés directement au laboratoire pour les analyses.

Tableau 10: Répartition selon l'origine, le nombre et la nature des échantillons collectés

| Régions | Khenchela centre | Kais | El Hamma | Yabous |
|--|---------------------|-----------|-----------|-----------|
| Nombre | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Blé | 04 | 04 | 04 | 04 |
| Orge | 04 | 04 | 04 | 04 |
| Avoine | 04 | 04 | 04 | 04 |
| *Nombre total d'échantillon collectés = 48 | | | | |
| *Quantité prélevée pour chaque échantillon = 50 g | | | | |

1.2. Souches de référence

Deux souches de références ont été utilisées dans cette étude, il s'agit de :

- ↻ *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 provenant de l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) de Toulouse.
- ↻ *A.carbonarius* NRRL 369T provenant de l'INRA de Toulouse.

1.3. Milieux de culture

Les milieux de cultures utilisés pour les isollements et l'identification morphologique des principaux genres et espèces fongiques ainsi que pour la production de l'ochratoxine A sont les suivants:

- ✓ Milieu DRBC (Dichloran, Rose Bengal, Chloramphénicol) (**King et al. 1979**).
- ✓ Milieu PDA (Potato Dextrose Agar) (**Raper et Fennell, 1965**).
- ✓ Milieu CYA (Czapek Yeast Agar) (**Davis et al., 1987**).

La composition chimique de ces milieux est donnée en annexe.

1.4. Appareillage, produits chimiques et standards analytiques

Les appareils, les produits chimiques et les standards analytiques utilisés dans cette étude sont donnés en annexe.

2. Méthodes

2.1. Etude de la mycobiota

Au cours de ce travail, l'étude de la flore fongique, contaminant le blé, l'orge et l'avoine est effectuée en quatre étapes. En premier lieu, un dénombrement et isollements de la flore fongique contenus dans chaque échantillon a été réalisé. Par la suite l'étude des critères macroscopiques et microscopiques de cette flore a été effectuée.

La capacité de production de l'OTA des isolats appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* a été testée, sur milieu de culture CYA.

2.1.1. Dénombrement et isolement de la flore fongique

Au cours de notre étude nous avons utilisé la technique de suspension dilution et ensemencement sur milieu gélosé. Le milieu utilisé est le DRBC (Dichloran Rose Bengale Chloramphénicol). Ce milieu permet d'inhiber la croissance des champignons envahissant tel que le *Mucor* et le *Rhizopus*, et de réduire la taille de mycélium de façon à mettre en évidence la plus part des champignons contaminant le produit analysé.

2.1.1.1. Technique de suspension-dilutions et ensemencement sur milieu gélosé

Cette technique est utilisée pour l'analyse mycologique des matrices à l'état poudreux (Pitt & Hocking, 2009). Pour cela, 10 grammes de chaque échantillon sont dilués dans 90 ml d'eau stérile additionnée de tween 80 à raison de 1% et homogénéisé par agitation magnétique pendant 10 min. Des dilutions décimales (10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4}) sont réalisées à partir de la solution mère (10^{-1}). Cent microlitres (100 μ l) de chaque dilution sont ensemencés à la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu DRBC. Le Rose bengale qui entre dans la composition du DRBC a pour but de ralentir la croissance des mycètes envahissantes telle que les *Mucor* et les *Rhizopus*. Ainsi, la présence du chloramphénicol, agent antibactérien, dans sa composition permet d'éviter la croissance bactérienne. Trois répétitions sont réalisées par dilution. L'incubation a lieu à l'obscurité à 28°C pendant 5 à 7 jours. Le nombre de moisissures est exprimé en Unité Formant Colonies par gramme d'échantillon (UFC/g). Les isolats représentatifs de chaque échantillon sont purifiés puis repiqués dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. Après incubation de 7 à 10 jours à 28°C, les isolats sont conservés à +4°C pour les analyses ultérieures.

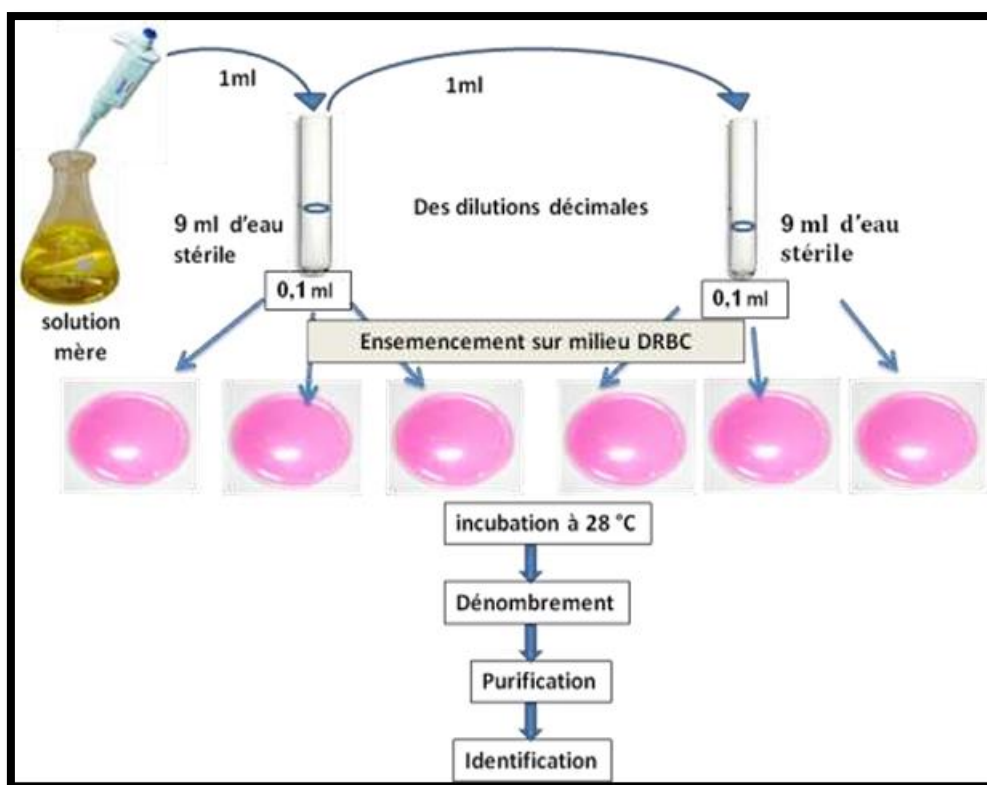


Figure 13: Représentation schématique de la technique de suspension-dilutions utilisée pour l'analyse fongique.

2.1.2. Identification des isolats fongiques

2.1.2.1. Identification macroscopique

Les souches isolées ont été identifiées par observation des caractères macroscopiques après leur mise en culture sur les milieux PDA et CYA. Les clés d'identification majeures utilisées étaient : la couleur des colonies, la texture de la surface de la colonie, la vitesse de croissance (diamètre des colonies), l'aspect du revers de la colonie et la production des pigments, dans le but de déterminer s'il s'agit d'un *Aspergillus*, d'un *Penicillium*, ou d'un autre genre.

2.1.2.2 Identification microscopique

Les moisissures isolées ont été identifiées selon des critères microscopiques en fonction des caractères suivants: l'organisation du mycélium, la taille et couleur des conidies et du conidiophores, l'ornementation des conidies et présence ou l'absence de métules.

Les isolats fongiques ont été examinés en utilisant deux méthodes :

a) Préparation microscopique ordinaire

Une aiguille d'inoculation a été utilisée pour récupérer une petite partie de la colonie comportant les structures conidiogènes. L'échantillon est prélevé sur la bordure de la colonie car les structures fertiles sont jeunes et le nombre de spores n'est pas excessif. Les prélèvements sont déposés sur une lame mouillée avec une goutte d'eau puis on pose une lamelle de couverture. On procède ensuite à l'examen au microscope photonique.

b) Prélèvement direct avec un ruban adhésif

Cette technique astucieuse permet aux spores et au mycélium d'adhérer à la surface du scotch ce qui nous aide à les identifier directement au microscope. Elle a été effectuée en appliquant délicatement un morceau de ruban adhésif transparent d'environ 2 cm sur le bord de la colonie à l'aide d'une pince en exerçant une légère pression de manière à obtenir une bonne empreinte de la colonie. Le ruban est ensuite placé sur une lame en verre qui sera observée au microscope photonique.

Après identification, les isolats appartenant aux genres *Aspergillus* section *Circumdati* et *Aspergillus* section *Nigri* ont été purifiés. La purification des souches a été effectuée par repiquage sur un milieu PDA stérile suivie d'une incubation à 28°C pendant 7 jours jusqu'à

l'obtention d'une culture bien sporulée. Cette opération a été répétée plusieurs fois pour chaque souche jusqu'à l'obtention d'une culture pure.

2.1.3. Etude du pouvoir producteur d'ochratoxine A

Tous les isolats appartenant aux genres *Aspergillus Circumdati* et *Nigri* reconnus producteurs des mycotoxines, sont testés pour leur capacité de produire de l'OTA, selon les méthodes mentionnées ci dessous:

2.1.3.1. Culture et extraction

Le pouvoir producteur de l'OTA par les isolats appartenant aux genres *Aspergillus* a été déterminé par CCM selon la méthode décrite par **Bragulat et al. (2001)**. La méthode consiste à cultiver les isolats sur milieu CYA, favorable à la production d'OTA, pendant 7 jours à 28°C. Trois rondelles (carottes) (10 mm de diamètre) de milieu colonisé par le mycélium des isolats, sont découpées à l'aide d'un emporte-pièce du centre vers la périphérie de la boîte de Pétri (60 mm de diamètre). Les carottes découpées sont introduites dans des tubes eppendorf de 2 ml, 1 ml de méthanol est additionné, tout en écrasant les morceaux de gélose afin de faciliter l'extraction des mycotoxines. Après incubation pendant une heure à température ambiante, le mélange est centrifugé pendant 15 min à 13000 rpm (révolutions per minute). Le surnageant est aspiré à l'aide d'une micropipette puis injecté dans un autre tubes eppendorf de 1.5ml, les filtrats sont conservés à l'abri de la lumière et à une température de 4 °C pour une analyse ultérieure.

2.1.3.2. Analyse par chromatographie sur couches mince (CCM)

L'utilisation de la chromatographie sur couche mince, constitue une méthode de base qui permet de séparer et d'identifier les l'ochratoxine A. La méthode utilisée est celle décrite et développée par les méthodes officielles d'analyse. Les différences d'absorbance 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**).

La CCM consiste à déposer de spot de 10 à 15µl de l'extrait à analyser sur une plaque de gel de silice (TLC Silica gel 60 F254, Aluminium sheets 20 X 20 cm) ; en effet, les fractions de 15 µl des extraits méthanoliques sont déposés à 1,5 cm de bord inférieur ; dans chaque plaque 10 à 11 extraits sont déposés. La séparation est effectué dans une cuve en verre fermée

(20 X 20 cm), la phase mobile est un mélange de solvants : toluène/acétate d'éthyle/acide formique (50 :40:10, v/v/v).

La CCM se réalise par les étapes suivantes :

- ↻ À l'aide d'une règle, on a tracé des points éloignés de 2 cm de bord inférieur de la plaque et espacés entre eux de 1,5 cm.
- ↻ On a aspiré par une micro-seringue 15 μ l de l'extrait méthanolique à analyser et ne le déposer gouttes à gouttes, soigneusement, sur le point tracé sur la plaque CCM et sécher en parallèle par un séchoir pour éviter d'avoir de larges taches.
- ↻ Un témoin contenant une solution standard est déposé sur chaque plaque.
- ↻ On a déposé les plaques verticalement dans la cuve préalablement saturé par la phase mobile de la séparation. Le solvant migre jusqu'à la ligne limite de bord (2 cm de bord supérieur de la plaque).
- ↻ On retire la plaque de la cuve et la laisser sécher à température ambiante pendant 20 min et observer sous 365 nm UV (fluorescence).

La présence d'OTA provoque une fluorescence bleu-vert. La comparaison du front ratio (Rf) de l'extrait avec le front ratio standard (Rf) et l'intensité de fluorescence des spots permet de confirmer la présence de l'ochratoxine et d'évaluer la quantité de production.

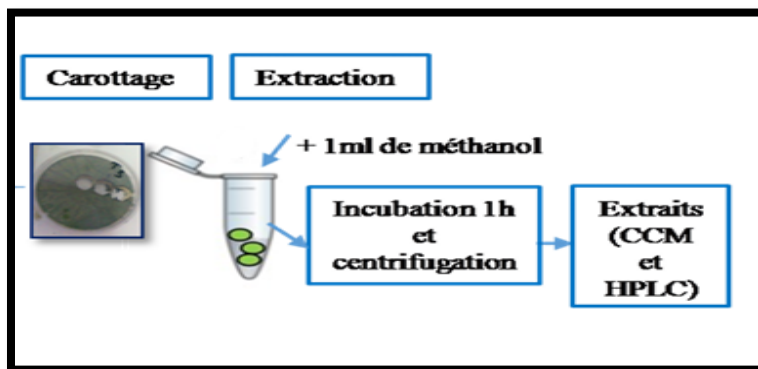


Figure 14: Schéma du protocole de l'étude du pouvoir producteur de l'OTA.

Résultats et discussion

1. Résultats

1.1. Etude de la flore fongique

1.1.1. Dénombrement et distribution des genres fongiques dans le blé, l'orge et l'avoine

Le dénombrement de la flore fongique des 48 échantillons (blé, orge, avoine) a été effectué par la méthode indirecte « suspension-dilution et ensemencement sur milieu gélosé » appliquée aux différents échantillons analysés et broyés. Les résultats sont démontrés dans le tableau 11.

1.1.1.1. Dénombrement par la méthode de suspension-dilution

Les résultats du dénombrement de la flore fongique sur milieu DRBC ont montré que la totalité des échantillons sont contaminés par différents genres des moisissures.

La densité de la FFT (Flore Fongique Totale) de blé est élevée dans les échantillons provenant de la commune de Kais avec un taux de contamination $3,7 \times 10^4$ UFC/g et pour l'orge le taux de contamination le plus élevé et obtenu dans les échantillons provenant de El Hamma 6×10^4 UFC/g, pour l'avoine les échantillons les plus contaminés proviennent de la commune d'El Hamma $2,9 \times 10^4$ UFC/g.

Tableau 11: Les résultats de la flore fongique totale des échantillons dans les différentes régions étudiés par la méthode indirecte.

| Régions | Khenchela centre | | | Kais | | | El Hamma | | | Yabous | | |
|-----------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | Blé | Orge | Avoine | Blé | Orge | Avoine | Blé | Orge | Avoine | Blé | Orge | Avoine |
| Nombre d'échantillons | 04 | 04 | 04 | 04 | 04 | 04 | 04 | 04 | 04 | 04 | 04 | 04 |
| FFT (UFC/g) | $12,3 \times 10^3$ | $5,1 \times 10^3$ | $4,5 \times 10^3$ | $3,7 \times 10^4$ | $7,7 \times 10^3$ | $2,3 \times 10^3$ | $1,7 \times 10^4$ | 6×10^4 | $2,9 \times 10^4$ | $6,1 \times 10^3$ | $3,5 \times 10^3$ | $2,1 \times 10^3$ |

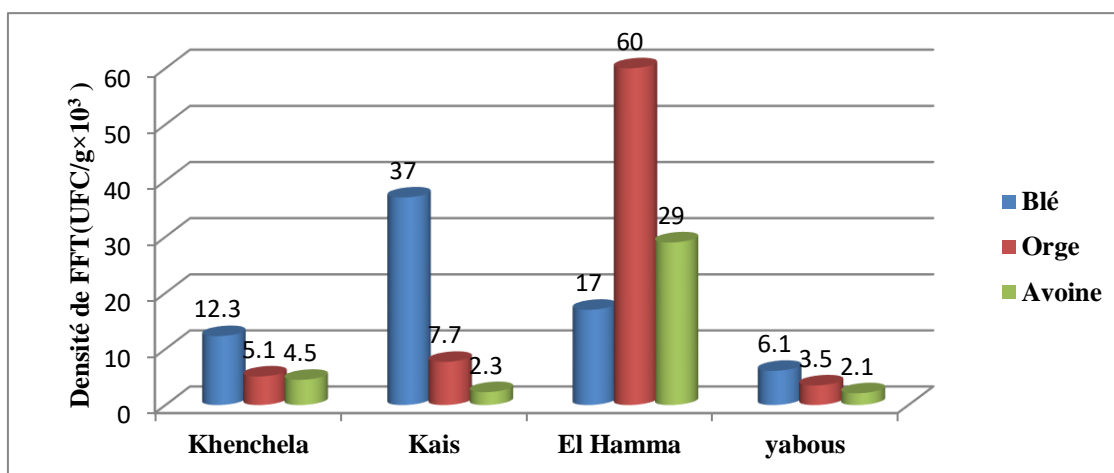


Figure 15 : Densité de la flore fongique totale des échantillons dans les différentes régions étudiées par la méthode de suspension-dilution

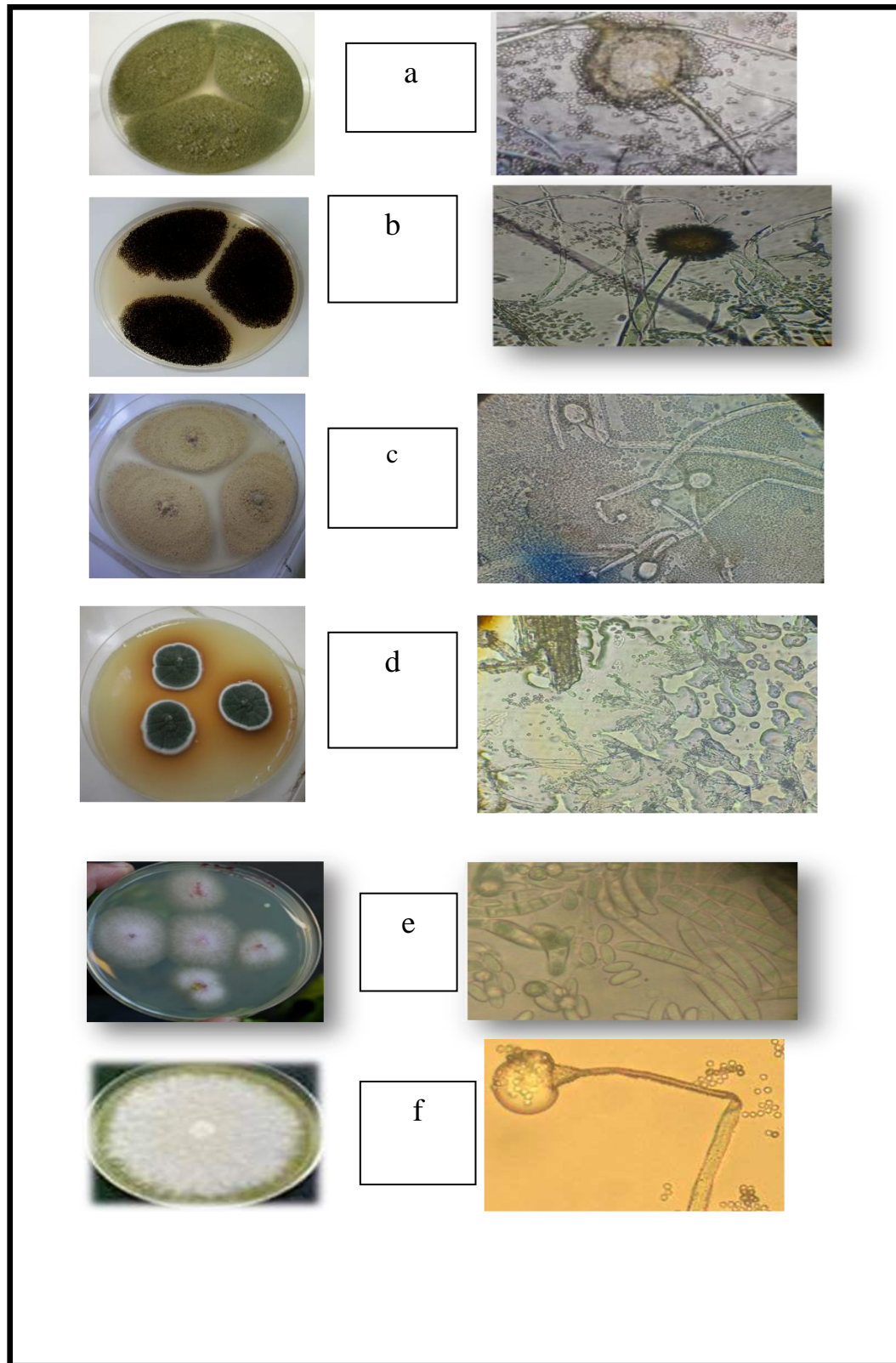
1.1.2. Identification morphologique des moisissures

Les résultats de dénombrements sur milieu DRBC montrent, des différences de contamination par les genres fongiques dans l'ensemble des échantillons. Au cours de cette étude 5 genres ont été identifiés avec des proportions variables: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Mucor* et *Fusarium* avec une dominance du genre *Aspergillus* (tableau 12). L'observation de la couleur et de la texture de la colonie, sur le milieu d'isolement DRBC et sur milieu CYA, ainsi que les structures micro-morphologiques (décrits dans la partie bibliographique), permet généralement de faire la distinction entre les principaux genres (Figure 17). Les isolats appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* ont été repiqués sur des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA avant de les identifier.

1.1.2.1. Reconnaissance des principaux genres fongiques isolés des différents échantillons analysés



Figure 16: Aspect macroscopique des souches fongiques isolées des les échantillons analysés sur milieu DRBC.



a : *Asperillus flavus*, *b* : *A. carbonarus*, *c* : *A.ochraceus*, *d* : *Penicillium sp*, *e* : *Fusarium*, *f* : *Alternaria sp* .

Figure 17: Aspects macroscopique et microscopique des principaux genres isolés des échantillons analysés.

1.2. Distribution des principaux genres fongiques

L'analyse de la flore totale des échantillons de blé, orge et avoine a permis de montrer la présence des champignons potentiellement toxigènes. Les moisissures les plus fréquemment rencontrées sont des espèces appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*.

Les résultats présentés dans le tableau 12 montrent une dominance du genre *Aspergillus* avec des taux allant de 30% à 62%. Le genre *Penicillium* représente de 20% à 50%. Les autres genres sont faiblement représentés.

Tableau 12: La fréquence des principaux genres fongiques dans les différents échantillons.

| Régions | khenchela | | | Kais | | | El Hamma | | | Yabous | | |
|---------------------------|-----------|------|--------|------|------|--------|----------|------|--------|--------|------|--------|
| céréales | Blé | Orge | Avoine | Blé | Orge | Avoine | Blé | Orge | Avoine | Blé | Orge | Avoine |
| Principaux genres% | | | | | | | | | | | | |
| <i>Aspergillus</i> | 45 | 40 | 30 | 58 | 50 | 40 | 55 | 45 | 33 | 62 | 43 | 30 |
| <i>Penicillium</i> | 20 | 35 | 25 | 31 | 30 | 22 | 20 | 30 | 50 | 25 | 28 | 32 |
| <i>Alternaria</i> | 03 | 10 | 15 | 0 | 08 | 13 | 06 | 05 | 0 | 02 | 10 | 18 |
| <i>Fusarium</i> | 22 | 15 | 20 | 0 | 10 | 15 | 16 | 15 | 07 | 08 | 12 | 14 |
| <i>Mucor</i> | 10 | 0 | 10 | 11 | 02 | 10 | 03 | 05 | 10 | 03 | 07 | 06 |

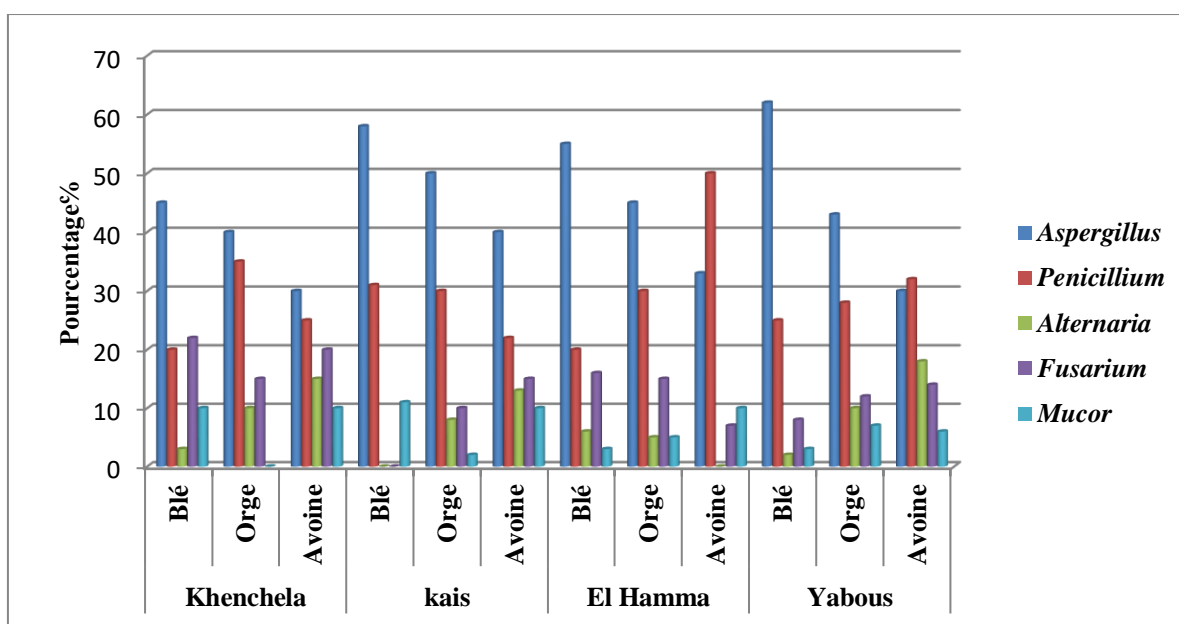


Figure 18 : Pourcentage des principaux genres fongiques isolés des différents échantillons

1.2.1. Distribution des sections d'*Aspergillus* dans les échantillons analysés

Au cours de cette étude nous avons isolé des souches des différentes sections d'*Aspergillus* section *Flavi*, *Nigri*, *Circumdati*. L'observation de la couleur et de la texture et l'aspect de la colonie, sur le milieu CYA (Figure 19) nous a permis de distinguer entre ces sections.

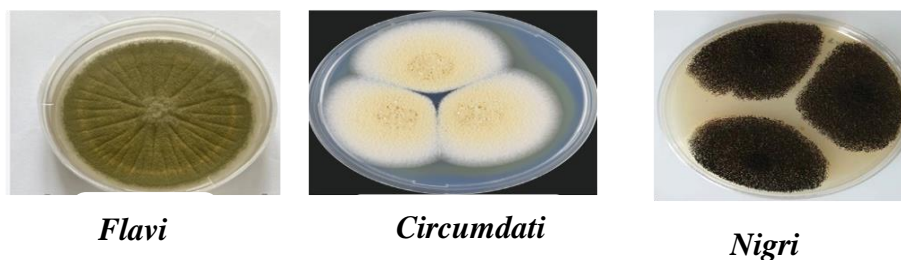


Figure19: Aspect macroscopique des souches fongiques des différentes sections d'*Aspergillus* isolées des échantillons analysés.

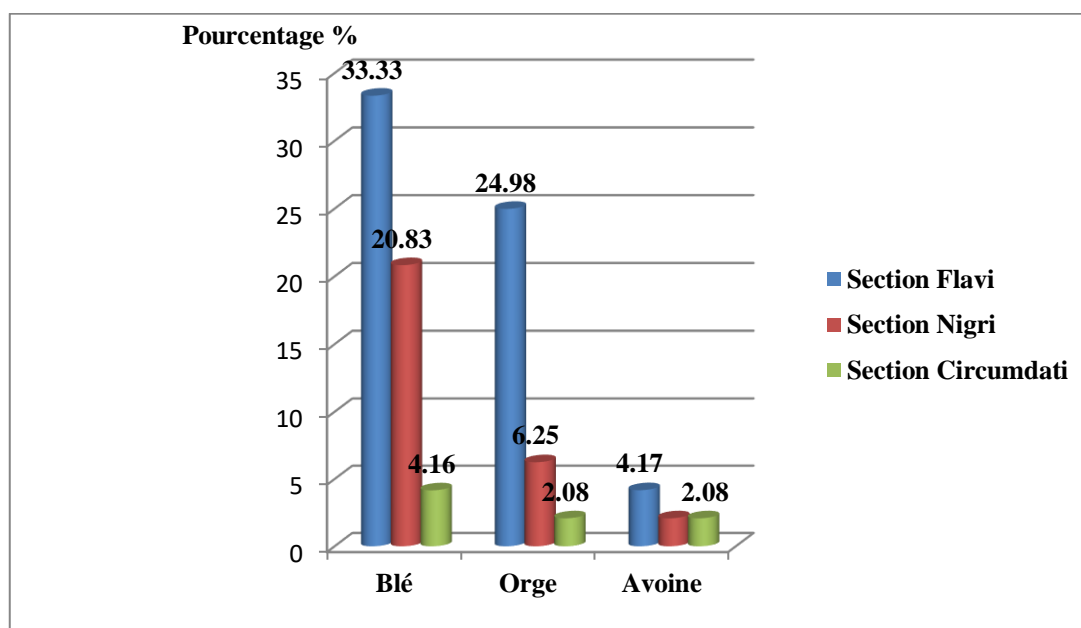


Figure20: Pourcentage des différentes sections du genre *Aspergillus* dans les échantillons de blé, d'orge et d'avoine.

Les résultats ont montré une prédominance du genre *Aspergillus* section *Flavi* dans tous les échantillons analysés avec un taux de contamination qui atteint 33,33% pour le blé 24,98% pour l'orge et à 4,17% pour l'avoine. Pour la section *Nigri* le taux de

contamination des échantillons varie entre 20,83% à 2,08% tandis que la section *circumdati* enregistre un taux minimal qui varie entre 4,16% jusqu'à 2,08%.

1.3. Etude du pouvoir producteur d'OTA par les isolats *d'Aspergillus*

1.3.1. Détection de la fluorescence sur milieu CYA et par CCM

Les analyses mycologiques ont montré la dominance du genre *Aspergillus* dans tous les échantillons testés. Au total, 50 isolats *d'Aspergillus* ont été isolés et testés pour le pouvoir producteur d'OTA sur milieu CYA. Le but de cette étude est d'évaluer l'incidence des isolats ochratoxinogènes dans les échantillons analysés ce qui permet d'estimer la qualité de ces produits en terme de risque d'OTA. Le criblage des isolats ochratoxinogènes est basé sur la mise en évidence de la fluorescence bleue-vert sous UV à 365 nm (Figure 21). Le pouvoir producteur des isolats a été confirmé par CCM (Figure 22).

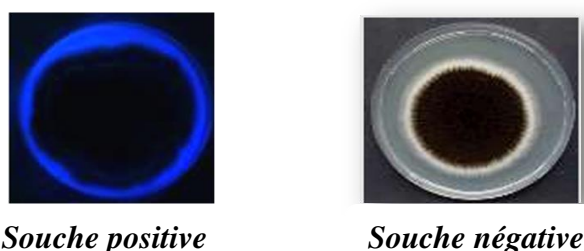


Figure21: Isolat producteur d'OTA Fluorescence bleue vert sous UV (365 nm).

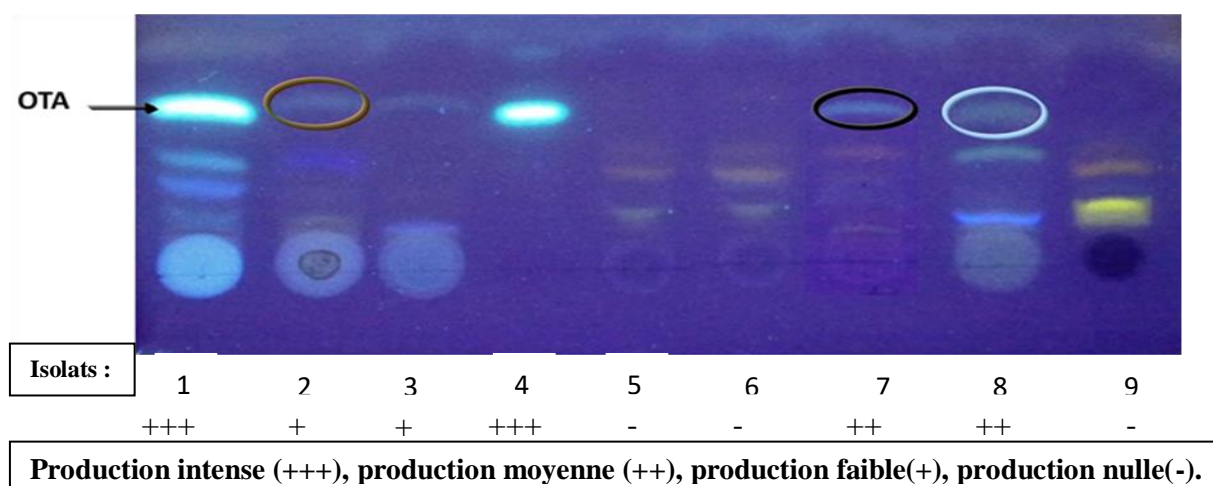


Figure22: Image sous UV 365 nm montrant les taches bleues vert correspond à l'OTA produite par les isolats ochratoxinogènes sur CCM.

1.3.2. Les souches ochratoxinogènes isolées des échantillons

Résultats et discussions

L'analyse a montré que 15 isolats sont ochratoxinogènes, 08 isolats sont issues du blé, 05 d'orge et 02 d'avoine, les pourcentages suivants représentant (53,33%) (33,33%) et (13,33%) respectivement.

Tableau 13: Répartition des isolats ochratoxinogènes dans les échantillons analysés.

| Les échantillons | Nombre d'isolats testés | Nombre d'isolats ochratoxinogènes | Pourcentage d'isolats Ochratoxinogènes % |
|------------------|-------------------------|-----------------------------------|--|
| Blé | 20 | 08 | 53,33 |
| Orge | 18 | 05 | 33,33 |
| Avoine | 12 | 2 | 13,33 |

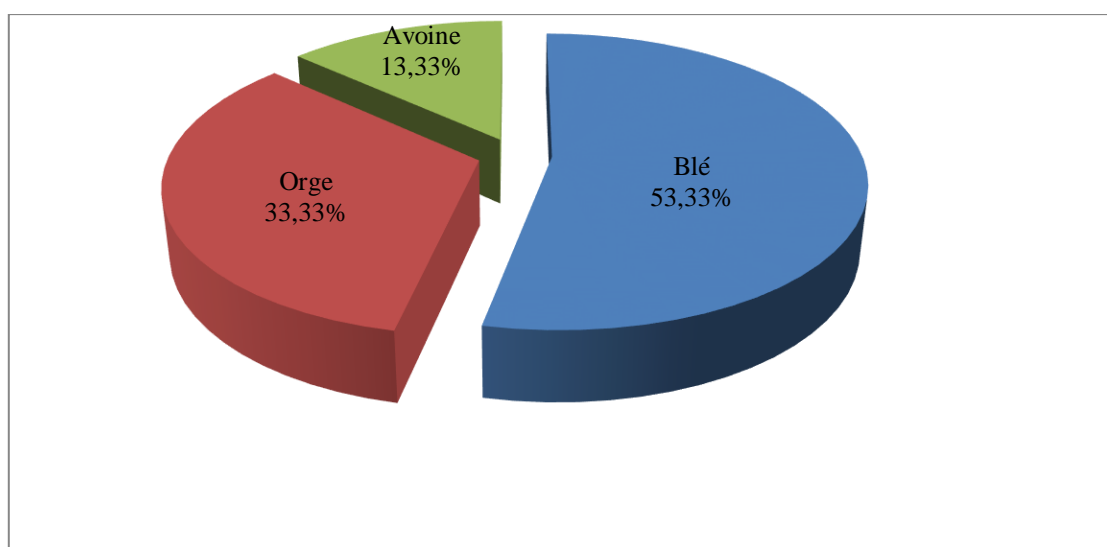


Figure23: Pourcentage d'isolats ochratoxinogènes dans les échantillons analysés.

2. Discussion

L'objectif de notre travail est d'évaluer la contamination des céréales par les champignons ochratoxinogènes. Pour cela 48 échantillons (12 échantillons de blé, 12 d'orge et 12 d'avoine) ont été collectés de différentes communes de la wilaya de kenchela (Kkenchela centre, Kais, El Hamma, Yabous) et sont analysés.

L'analyse de la flore fongique a montré que la totalité des échantillons ont été contaminés par la flore fongique, cependant, le blé était la céréale la plus contaminée avec un taux de contamination $3,7 \times 10^4$ UFC/g suivi de l'orge 6×10^4 UFC/g et l'avoine $2,9 \times 10^4$ UFC/g.

Une étude réalisée par (**Tabuc et al., 2009**) concernant les moisissures et les mycotoxines dans les céréales dans le sud- est de la Roumanie a montrée que l'analyse de la contamination fongique a révélé que le maïs était la céréale la plus contaminée avec un taux de contamination moyen de 51×10^3 UFC/g suivi du blé et de l'orge avec un taux moyen de contamination 37,9 et $26,6 \times 10^3$ UFC/g respectivement.

Le taux élevé de contamination des céréales est le plus souvent dû à de mauvaises conditions de stockage qui sont favorables à la croissance et à la reproduction des moisissures dans toutes les zones étudiées, aussi aux conditions environnementales telles que la température et le taux d'humidité. Les moisissures de stockage sont capables de croître sur des substrats contenant 10 à 18% d'humidité, avec un optimum de croissance compris entre 11 et 13 % (**Gacem et al., 2011**)

Les espèces fongiques présents dans les céréales et leur dénombrement sont influencés par des conditions telles que le climat, l'emplacement, le moment de la récolte et les conditions de stockage (**Medina et al., 2006**).

La contamination fongique des grains de céréales se produit pendant la croissance des cultures, la récolte, le séchage et l'entreposage après la récolte. Cette contamination provient de plusieurs sources, notamment l'air, la poussière, l'eau, le sol, les excréments d'insectes, d'oiseaux et de rongeurs, ainsi que de l'équipement contaminé et les manipulations insalubres (**Magan et Aldred, 2006**).

La flore fongique identifiée a révélée la présence des champignons qui appartient aux genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* et *Mucor* à des pourcentages différents, on observe une prédominance du genre *Aspergillus* (62%) suivi par le genre *Penicillium* (50%). Nos résultats sont en accord avec de celle de **(Riba, 2008)** qui montrent que Les champignons communément isolés du blé étaient des espèces d'*Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria* et de *Mucor*. *Aspergillus* était le genre le plus fréquemment détecté dans tous les échantillons. Bien que les *Aspergillus* aient longtemps été considérés comme des champignons de stockage, nos résultats démontrent qu'ils peuvent également contaminer le blé dans les champs. Sa présence dans les échantillons de blé avec une fréquence élevée dans la région de Sétif est probablement due aux conditions très chaudes et sèches de l'été. Les données actuellement disponibles indiquent que le genre *Aspergillus* présente une distribution mondiale, en particulier dans les régions subtropicales et tempérées chaudes telles que l'Algérie **(Riba, 2008)**.

Une étude mycologique a été réalisée pour la première fois sur des échantillons d'avoine à grains récoltés dans la province Entre Ríos en Argentine en 2006, le genre *Alternaria* était le plus dominant suivi par *Fusarium* et *Aspergillus* **(Sacchi et al., 2009)**. Les fortes précipitations juste avant la récolte sont un facteur induisant une colonisation extensive des épis de céréales par *Alternaria* spp. **(Kosiak et al., 2004)**.

Les champignons des champs, y compris des espèces comme *Alternaria* et *Fusarium*. Envahissent le grain dans le champ à des taux d'humidité relative élevés (90% à 100%) lorsque le grain est très humide (18% à 30%) c'est-à-dire un taux d'humidité élevé **(Bullerman et Bianchini, 2009)**. Une augmentation significative d'un certain nombre d'infections par des espèces de *Fusarium* est souvent observée lorsque la maturation est effectuée pendant les périodes humides, la température d'entreposage influe fortement sur les types et les taux de détérioration fongique : les espèces *Penicillium* sont dominant à des températures plus froides tandis que les espèces *Aspergillus* sont plus courantes à des températures ambiantes (20 à 25°C) **(Magan et Aldred, 2006)**.

Nos résultats ont montré une prédominance du genre *Aspergillus* section *Flavi* dans tous les échantillons analysés suivi par section *Nigri* et dernièrement par section *Circumdati*. Les espèces d'*Aspergillus* les plus fréquemment observées dans le grain de blé stocké sont surtout : *A.flavus*, *A.niger* et *A.fumigatus* **(Mathew et al., 1970)**.

A travers notre étude l'analyse des isolats a montré que 15 sont ochratoxinogènes 08 isolats sont issues du blé ,05 d'orge et 02 d'avoine représentant respectivement les pourcentages suivants (53,33%), (33,33%) et (13,33%).

Parmi les 50 isolats analysés (30 pour *Aspergillus section Nigri* et 20 pour *Aspergillus circumdati*), 15 (30%) étaient producteurs d'OTA .Tous les isolats d'*A.ochraceus* et des isolats d'*A.carbonarius* examinés étaient producteurs d'ochratoxine A (**Riba, 2008**).

Le maïs le blé et l'orge ont tous été analysés pour détecter une éventuelle contamination par l'ochratoxine A. Le pourcentage d'échantillons positifs était de 40%,40% et 55% respectivement (**Zinedine et al., 2006**).

Divers denrées (comme le blé, le maïs, l'orge, les haricots, les pommes de terre, le pain) et les aliments pour animaux contiennent également de l'OTA (**Pfohl et Manderville, 2007**). Les céréales, les épices et les produits dérivés en provenance des pays méditerranéens pourraient être affectés par la contamination par les mycotoxines en raison des conditions climatiques, en particulier l'humidité et la température de la région (**Zinedine et al., 2006**).

L'OTA est produite par des souches d'*Aspergillus* isolées à plusieurs stades (avant la récolte, au cours du stockage et de la transformation). La biosynthèse de l'OTA par les *Aspergillus* ochratoxigènes est influencée par divers facteurs environnementaux tels que la température, les conditions du sol, l'historique des cultures, la fréquence des pluies et les pratiques de gestion (**Riba, 2008**). Plusieurs espèces d'*Aspergillus* ont été signalées comme produisant de l'OTA, notamment *A.ochraceus*, *A.niger*, *A.carbonarius* (**Lund et Frisvad, 2003**). Cependant, il a été démontré que deux espèces du genre *Penicillium* ont la capacité de produire de l'ochratoxine A, *P.verrucosum* et *P.nordicum* (**El Khoury et Atoui, 2010**).

Conclusion et perspective

Conclusion et perspective

Conclusion et perspectives

La présence de l'OTA dans les céréales constitue un problème sanitaire et économique dans le monde. Notre étude est menée sur l'évaluation de la contamination du blé, d'orge et d'avoine consommés au niveau de la wilaya de khenchela par les champignons ochratoxinogènes. Beaucoup d'intérêt est accordé à la détection et à la quantification des espèces d'*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor* et *Alternaria* responsables de la contamination du blé, d'orge et d'avoine. Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes particulièrement intéressés à étudier les espèces ochratoxinogènes dans les échantillons de blé, d'orge et avoine dans la wilaya de khenchela en quatre commune (Khenchela centre, Kais, El Hamma, Yabous). Les résultats montrent que, la contamination par les champignons a été observée dans tous les échantillons analysés.

Cependant, les échantillons du blé et d'orge ont montré une forte contamination par *Aspergillus* et une faible contamination par le genre *Fusarium*. Nous avons également noté la dominance du genre *Aspergillus* 30% à 62% dont les espèces appartenant aux sections *Flavi* et *Nigri* et *Circumdati* dans la majorité des aliments analysés. Nos résultats indiquent la densité de la flore fongique totale de blé est élevée dans les échantillons provenant de la commune de Kais avec un taux de contamination $3,7 \times 10^4$ UFC/g et pour l'orge le taux de contamination le plus élevé et obtenu dans les échantillons provenant de El Hamma 6×10^4 UFC/g, pour l'avoine les échantillons les plus contaminé provient de la commune d'El Hamma $2,9 \times 10^4$ UFC/g.

La mise en évidence du pouvoir producteur d'OTA par détection de la fluorescence sur milieux de culture CYA a permis de montrer que cette technique, qui présente l'avantage d'être simple et moins coûteuse, est aussi performante que la détection par CCM. Ainsi, on peut préconiser l'utilisation du milieu CYA comme méthode rapide de détection des isolats producteurs d'OTA. Par ailleurs, la CCM peut être utilisée pour la confirmation et la quantification des résultats obtenus sur milieu CYA.

Enfin, il convient d'admettre, au vu de ces résultats, que les études réalisées dans cet axe restent insuffisantes et beaucoup de travail reste à accomplir.

Il serait intéressant, en perspective:

- ✓ Etendre l'étude sur un grand nombre d'échantillons.

Conclusion et perspective

- ✓ Appliquer les techniques moléculaires afin d'identifier d'une manière plus précise les espèces d'isolats ochratoxinogènes.
- ✓ Développer et valider d'autres méthodes analytiques, simples et à faible coût, afin de faciliter le contrôle et d'assurer un suivi régulier des ochratoxines et d'autres mycotoxines dans les céréales.

En vue d'une lutte biologique contre les champignons toxigènes, il serait intéressant de:

- ✓ Etudier l'influence de la compétition ou de la synergie entre champignons qui partagent les mêmes niches écologiques, notamment le genre *Aspergillus*, sur la production des mycotoxines notamment les ochratoxines.
- ✓ Rechercher des microorganismes qui peuvent dégrader les mycotoxines.

Annexe

Annexe

1. Milieu de culture

➤ Milieu DRBC (Dichloran, Rose Bengale, Chloramphénicol) (King *et al.*, 1979)

| | |
|---------------------------------------|--|
| Glucose | 10 g |
| Peptone de viande | 5 g |
| KH ₂ PO ₄ | 1 g |
| MgSO ₄ , 7H ₂ O | 0.5 g |
| Rose Bengale | 25 mg (soit 0.5 ml d'une solution à 5% dans l'eau) |
| Dichloran | 2 mg (soit 1ml d'une solution à 0.2% dans l'éthanol) |
| Chloramphénicol | 100 mg |
| Agar | 15 g |
| Eau distillée | 1 L |
| PH final = 6.2 ± 0.2 | |

Le milieu DRBC est utilisé pour l'isolement des champignons.

➤ Milieu PDA (Pomme de terre, Dextrose, Agar)

| | |
|--------------------|-------|
| Pomme de terre | 200 g |
| Agar | 15 g |
| Glucose | 20 g |
| Eau distillée | 1 L |
| PH final 5.6 ± 0.2 | |

Le milieu PDA est utilisé pour la conservation des isolats.

➤ Milieu CYA (Czapek, Yeast, Agar) (Pitt & Hocking, 1997)

| | |
|---------------------------------|-------|
| Saccharose | 30 g |
| Extrait de levure | 5 g |
| Czapek concentré | 10 ml |
| K ₂ HPO ₄ | 1 g |
| Agar | 15 g |
| Eau distillée | 1 L |
| Saccharose | 30 g |
| PH final = 6.2 ± 0.2 | |

| Czapek concentré | |
|--|-------|
| NaNO ₃ | 30g |
| KCl | 5g |
| MgSO ₄ , 7H ₂ O | 5g |
| Fe SO ₄ , 7H ₂ O | 0.1g |
| Zn SO ₄ , 7H ₂ O | 0.1g |
| Cu SO ₄ , 5H ₂ O | 0.05g |
| Eau distillée | 100ml |

Le milieu CYA est utilisé pour l'identification morphologique et la production de l'OTA.

- ❖ Tous les milieux sont stérilisés par autoclavage durant 15 minutes à 120°C.

2. Appareillages

Les appareils utilisés dans cette étude sont les suivants :

- ✓ Autoclave.
- ✓ Etuve (Héraeus).
- ✓ Agitateur orbital Heidolphunimax 2010.
- ✓ Lampe UV (254 nm).
- ✓ Microscope optique.
- ✓ Centrifugeuse.
- ✓ Balance de précision.
- ✓ Micropipette.
- ✓ Plaque de gel de silice (TLC Silica gel 60 F254, Aluminium sheets 20x20cm).
- ✓ Bain marie.
- ✓ PH-mètre.

3. Produits chimiques et solvants

- Méthanol.
- Acétate d'éthyle.
- Acide formique.
- Toluène.
- Hypochlorite de sodium.

Référence bibliographique

Référence bibliographique

1. Achetbi, H., Amiri, S., & Lahlali, R. (2021). *Les Alternarioses (Alternaria spp.) des agrumes : Diagnostic et méthodes de lutte*. 9, 158-170.
2. Akhtar, T., Shakeel, Q., Sarwar, G., Muhammad, S., Iftikhar, Y., Ullah, Mubeen, M., & Hannan, A. (2017). Evaluation of fungicides and biopesticides for the control of Fusarium wilt of tomato. *Pakistan Journal of Botany*, 28, 1-18.
3. Algérie : Les prévisions de production, d'importation et de consommation de céréales, selon l'USDA. (2024, octobre 8). *Fibladi fr*. <https://fibladi.com/news/fr/algerie-les-previsions-de-production-dimportation-et-de-consommation-de-cereales-selon-lusda/>
4. Aloui, A. (2023). *Etude de la prévalence des mycotoxines dans la filière blé en Tunisie et de leur réduction par des bio-produits in vivo* [Phdthesis, Université <https://theses.hal.science/tel-04840674>
5. Bakroune, N. (2021). *L'entomofaune des céréales dans la région de Biskra. Ecologie des populations des principaux bioagresseurs*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.17146.62405>
6. Balajee, S. A., Gribskov, J. L., Hanley, E., Nickle, D., & Marr, K. A. (2005). *Aspergillus lentulus* sp. Nov., a new sibling species of *A. fumigatus*. *Eukaryotic Cell*, 4(3), 625-632. <https://doi.org/10.1128/EC.4.3.625-632.2005>
7. Balajee, S. A., Nickle, D., Varga, J., & Marr, K. A. (2006). Molecular Studies Reveal Frequent Misidentification of *Aspergillus fumigatus* by Morphotyping. *Eukaryotic Cell*, 5(10), 1705-1712. <https://doi.org/10.1128/EC.00162-06>
8. Banahene, J. C. M., Ofosu, I. W., Odai, B. T., Lutterodt, H. E., Agyemang, P. A., & Ellis, W. O. (2024). Ochratoxin A in food commodities : A review of occurrence, toxicity, and management strategies. *Heliyon*, 10(20). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e39313>
9. Battais, F., Richard, C., & Leduc, V. (2007). Les allergènes du grain de blé. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 47(3), 171-174. <https://doi.org/10.1016/j.allerg.2007.01.020>
10. Bejaoui, H. (2005). *Champignons ochratoxinogènes et ochratoxine A (OTA) dans des vignobles Français et procédés biologiques de décontamination de*

- l'OTA dans les moûts de raisin* [Phdthesis, Institut National Polytechnique (Toulouse)]. <https://ut3-toulouseinp.hal.science/tel-04581933>
11. Bensemmane, L. (2018). *Analyse de l'adaptation de l'orge (hordeum vulgare L.) sous conditions semi-arides*. https://www.academia.edu/123561601/Analyse_de_l_adaptation_de_l_orge_hordeum_vulgare_L_sous_conditions_semi_arides
 12. Blaize, M., Normand, A.-C., Fekkar, A., & Piarroux, R. (2021). Identification des moisissures au laboratoire de routine hospitalière. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2021(529), 58-65. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(21\)00039-3](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(21)00039-3)
 13. Bouti Karima. (2021). Étude de la contamination par les champignons du genre *Aspergillus* section Flavi producteurs d'aflatoxines et des aflatoxines de la filière alimentation animale en Algérie. *Thèse doctorat, École Normale Supérieure de Kouba*.
 14. Bragulat, M. R., Abarca, M. L., & Cabañes, F. J. (2001). An easy screening method for fungi producing ochratoxin A in pure culture. *International Journal of Food Microbiology*, 71(2-3), 139-144. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00581-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00581-5)
 15. CAHAGNIER, B., Bakan, B., MELCION, D., & Richard-Molard, D. (1998). *Influence of metallic ions on trichothecenes (DON, ADON) production of Fusarium graminearum in liquid culture*.
 16. Calvez T. (2009). Diversité et fonctions écologiques des champignons en écosystème hydrothermal marin profond. *Interactions entre organismes (Doctoral dissertation, Université Rennes 1) France*. P, 9-17
 17. Chabasse, D., Guiguen, C., & Contet-Audonneau, N. (1999). *Mycologie médicale*. Elsevier Masson.
 18. Chabasse, D., Bouchara, J., Gentile, L., Brun, S., Cimon, B., & Penn, P. (2002, mars). (2002 *Bioforma 25 Les Moisissures D'intérêt Médical | PDF | Champignons / Spore*, s. d.)
 19. Comarú Pasqualotto, A. (Éd.). (2010). *Aspergillosis : From Diagnosis to Prevention*. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-2408-4>

20. Elke K. Arendt, Emanuele Zannini. (2013). Technology and Nutrition, Cereal Grains for the Food and Beverage Industries. *Woodhead Publishing Series in food science*.p 243-283 <https://doi.org/10.1533/9780857098924.243>
21. El Khoury, A., & Atoui, A. (2010). Ochratoxin A : General Overview and Actual Molecular Status. *Toxins*, 2(4), 461-493. <https://doi.org/10.3390/toxins2040461>
22. Elsaadani, M. (2019). *Détection des Ochratoxines A dans la production alimentaire par l'utilisation d'aptacapteur capacitif* [Phdthesis, Université Montpellier]. <https://theses.hal.science/tel-02733209>
23. Embeyale, D., Chen, Y.-T., & Assabie, Y. (2025). Automatic grading of barley grain for brewery industries using convolutional neural network based on texture features. *Journal of Agriculture and Food Research*, 20, 101752. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2025.101752>
24. ENNOUARI, A. (2020). *CONTAMINATION OF DURUM WHEAT BY MYCOTOXINS IN MOROCCO: STUDY OF THE PRESENCE OF DEOXYNIVALENOL, OCHRATOXIN A AND MYCOTOXIN PRODUCING FUNGI*. <http://toubkal.imist.ma/handle/123456789/33573>
25. Finefield, J. M., Frisvad, J. C., Sherman, D. H., & Williams, R. M. (2012). Fungal Origins of the Bicyclo[2.2.2]diazaoctane Ring System of Prenylated Indole Alkaloids. *Journal of Natural Products*, 75(4), 812-833. <https://doi.org/10.1021/np200954v>
26. Françoise Gantet, Marie-Pierre, A., Pascal,G., Vincent,T., Alain,V., Jacques, Z., Edelin, C., René Nozeran. (2002). Mycophytes. *Implémentation technique: SEMM Service Multimédia Univesité Lille1-2009* <https://uel.unisciel.fr/biologie>
27. Frisvad, J. C., Hubka, V., Ezekiel, C. N., Hong, S.-B., Nováková, A., Chen, A. J., Arzanlou, M., Larsen, T. O., Sklenář, F., Mahakarnchanakul, W., Samson, R. A., & Houbraken, J. (2019). Taxonomy of *Aspergillus* section *Flavi* and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. *Studies in Mycology*, 93(1), 1-63. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.06.001>
28. Gacem, M. A., Ould El Hadj Khelil, A., & Gacemi, B. (2011). ETUDE DE LA QUALITE PHYSICO-CHIMIQUE ET MYCOLOGIQUE DU BLE TENDRE LOCAL ET IMPORTE STOCKE AU NIVEAU DE L'OFFICE

- ALGÉRIEN INTERPROFESSIONNEL DES CÉRÉALES (OAIC) DE LA LOCALITE DE SAIDA (ALGERIE). *Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"*, 1(2), 67-76. <https://asjp.cerist.dz/en/article/594>
29. Gacem Mohamed Amine. (2011). Contribution à l'étude de l'activité antifongique et ant-imycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de *Citrullus colocynthis* sur la croissance de quelque moisissure d'altération de blé tendre stocké. *Mémoire de magister*.
30. González-Curbelo, M. Á., & Kabak, B. (2023). Occurrence of Mycotoxins in Dried Fruits Worldwide, with a Focus on Aflatoxins and Ochratoxin A: A Review. *Toxins*, 15(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/toxins15090576>
31. Gouvernement du Canada. (2020). [Toxines d'*Alternaria* dans la bière, le jus, l'huile et les graines - 1 avril 2018 au 31 mars 2019 - Agence canadienne d'inspection des aliments.](#)
32. Guellier, N. (2017, août 24). *Avoine (Avena sativa), céréale alimentaire et engrais vert*. Binette & Jardin. <https://jardinage.lemonde.fr/dossier-1331-avoine-avena-sativa-cereale-alimentaire-engrais-vert.html>
33. Houissa, H. (2020). *Les Mycotoxines du mil: Occurrence et flore fongique* [Phdthesis, Université Montpellier ; Université de Tunis El-Manar. Faculté des Sciences de Tunis (Tunisie)]. <https://theses.hal.science/tel-03210236>
34. Huybrechts, B., Tangni, E. K., Debongnie, P., Geys, J., & Callebaut, A. (2013). A review of analytical methods for determining mycotoxins in agricultural products. *Cahiers Agricultures*, 22(3), 202-215. <https://doi.org/10.1684/agr.2013.0616>
35. Joya Makhoulf. (2019). Caractérisation de la biodiversité des souches d'*Aspergillus* de la section *Flavi* isolées d'aliments commercialisés au Liban : approche moléculaire, métabolique et morphologique. Sciences agricoles. *Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT*; Université LibanaiseFrançais
36. Khoi, C.-S., Chen, J.-H., Lin, T.-Y., Chiang, C.-K., & Hung, K.-Y. (2021). Ochratoxin A-Induced Nephrotoxicity: Up-to-Date Evidence. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20), 11237. <https://doi.org/10.3390/ijms222011237>

37. King, A. D., Hocking, A. D., & Pitt, J. I. (1979). Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 37(5), 959-964. <https://doi.org/10.1128/aem.37.5.959-964.1979>
38. Kosiak, B., Torp, M., Skjerve, E., & Andersen, B. (2004). Alternaria and Fusarium in Norwegian grains of reduced quality—A matched pair sample study. *International Journal of Food Microbiology*, 93(1), 51-62. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.10.006>
39. Krouma, H., & Kacem Chaouche, N. (2021). *Evaluation de la contamination fongique et mycotoxique de la chaîne de production de fruits dans l'Est Algérien* [Thesis, Université Frères Mentouri - Constantine 1]. <http://depot.umc.edu.dz/handle/123456789/5104>
40. Lahouar, A. (2016). *Mycotoxines et champignons mycotoxinogènes dans les grains de sorgho commercialisé en Tunisie: Incidence et profils écophysiologicals*. <https://doi.org/10.1016/J.JSPR.2015.07.001>
41. Laouni, C. (2024). *Détection des mycotoxines dans certains produits alimentaires dans l'Est algérien*. <https://agris.fao.org/search/ar/records/67daaf97677d8be0233afc17>
42. Linas, M. D., Morassin, B., & Recco, P. (1998). Actualités sur *Alternaria*: Écologie. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 38(4), 349-355. [https://doi.org/10.1016/S0335-7457\(98\)80053-1](https://doi.org/10.1016/S0335-7457(98)80053-1)
43. Magan, N., & Aldred, D. (2006). Managing microbial spoilage in cereal and baking products. In *Food Spoilage Microorganisms* (p. 194-212). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9781845691417.2.194>
44. Mathew, S., Thomas, G., & Ahmad, T. (1970). An Evaluation of the Fungi Isolated from Sub-epidermal Region of Post-harvested Stored Wheat Grains. *Nepal Journal of Biotechnology*, 1(1), 9-13. <https://doi.org/10.3126/njb.v1i1.4168>
45. Matteredne, V., Ruas, M.-P., Toulemonde, F., Chauvet, M., Blandenet, M., & Luccioni, P. (2024). L'identification des blés. In *Cultiver dans l'Antiquité. Les céréales et les légumineuses*. <https://doi.org/10.34847/nkl.d9bb1q6w>
46. Meulenberg, E. P. (2012). Immunochemical Methods for Ochratoxin A Detection: A Review. *Toxins*, 4(4), 244-266. <https://doi.org/10.3390/toxins4040244>

47. Morin, O. (1994). *Aspergillus* et aspergilloses: biologie, Ed. Techniques Encyl. Med. Chir. (*Elsevier, Paris*), Maladies infectieuses, 8-600-A-10.
48. Munkvold, G. P., Arias, S., Taschl, I., & Gruber-Dorninger, C. (2019). Chapter 9 - Mycotoxins in Corn : Occurrence, Impacts, and Management. In S. O. Serna-Saldivar (Éd.), *Corn (Third Edition)* (p. 235-287). AACC International Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00009-7>
49. Mwabulili, F., Xie, Y., Li, Q., Sun, S., Yang, Y., & Ma, W. (2023). Research progress of ochratoxin a bio-detoxification. *Toxicon*, 222, 107005. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2022.107005>
50. Nasraoui, B. (2015). *LES CHAMPIGNONS ET PSEUDO-CHAMPIGNONS PATHOGENES DES PLANTES CULTIVEES Biologie, Nouvelle Systématique, Interaction Pathologique Bouzid NASRAOUI Publication de l'INAT.*
51. Niessen, L. (2007). PCR-based diagnosis and quantification of mycotoxin producing fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 119(1), 38-46. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.023>
52. Nugraha, A., Wibisono, K. F., Muda, E. V. S., Cahya, P., & Eleanor, M. (2025). Risk assessment of Ochratoxin A (OTA) exposure from coffee consumption in Indonesia using Margin of Exposure (MOE) approach. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 195, 115119. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2024.115119>
53. Oumata, S., David, J., Mekliche-Hanifi, L., Kharsi, M., Zaharieva, M., & Monneveux, P. (2020). Oasis wheats of the South of Algeria : Landraces, cultural practices and utilization. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 67(2), 325-337. <https://doi.org/10.1007/s10722-019-00874-7>
54. Pfohl-Leskowicz, A., & Manderville, R. A. (2007). Ochratoxin A : An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(1), 61-99. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600137>

55. Piepenbring, M. (2015a). *Biologische Schemata, gezeichnet und freigegeben von M. Piepenbring* [Image]. M. Piepenbring. [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:01_03_cellular_structures_of_fungi_and_algae_\(M._Piepenbring\).png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:01_03_cellular_structures_of_fungi_and_algae_(M._Piepenbring).png)
56. Piepenbring, M. (2015b). *Introducción a la Micología en los Trópicos*. <https://doi.org/10.1094/9780890546147>
57. Pitt, J., & Hocking, A. (2009). *Fungi and Food Spoilage*. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2>
58. Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (1997). Penicillium and Related Genera. In J. I. Pitt & A. D. Hocking (Éds.), *Fungi and Food Spoilage* (p. 203-338). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6391-4_7
59. Pleadin, J., Frece, J., & Markov, K. (2019). Chapter Eight—Mycotoxins in food and feed. In F. Toldrá (Éd.), *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 89, p. 297-345). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.007>
60. *Principaux repères sur les mycotoxines*. (s. d.). Consulté 14 juin 2025, à l'adresse <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins>
61. Rhouati, A. (2013). *Développement de méthodes bioanalytiques à base d'aptamères pour la détermination de l'ochratoxine A dans les denrées alimentaires* [These de doctorat, Perpignan]. <https://theses.fr/2013PERP0003>
62. Ropars, J., Caron, T., Lo, Y., Bennetot, B., & Giraud, T. (2020). *Comptes Rendus Biologies*.
63. Saadoun-Cousin, C., Paty, E., & Scheinmann, P. (2002). Allergie au blé. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 42(6), 583-594. [https://doi.org/10.1016/S0335-7457\(02\)00201-0](https://doi.org/10.1016/S0335-7457(02)00201-0)
64. Seo, H., Jang, S., Jo, H., Kim, H., Lee, S., Yun, H., Jeong, M., Moon, J., Na, T., & Cho, H. (2021). Optimization of the QuEChERS-Based Analytical Method for Investigation of 11 Mycotoxin Residues in Feed Ingredients and Compound Feeds. *Toxins*, 13(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/toxins13110767>
65. Shah, S., Luo, H., Pickupana, P., Ekeze, A., Soheli, F., Laga, H., Li, C., Paynter, B., & Wang, P. (2022). Automatic and Fast Classification of Barley Grains from Images: A Deep Learning Approach. *Smart Agricultural Technology*, 2, 100036. <https://doi.org/10.1016/j.atech.2022.100036>

66. Shamim, Md., Kumar, M., Kumar, R. R., Pandey, P., Srivastava, D., Kumar, D., Khan, N. A., Kumar, R. R., & Singh, K. N. (2016). Chapter 2— Understanding the Diversity of *Aspergillus* by Next-Generation Sequencing. In V. K. Gupta (Éd.), *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (p. 29-40). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63505-1.00002-6>
67. Singh, M., & Upadhyaya, H. (2015). *Genetic and genomic resources for grain cereals improvement* (p. 364).
68. Tabuc, C., Marin, D., Guerre, P., Sesan, T., & Bailly, J. D. (2009). Molds and Mycotoxin Content of Cereals in Southeastern Romania. *Journal of Food Protection*, 72(3), 662-665. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.3.662>
69. *The Fungi : The Genus Aspergillus. Kenneth B. Raper and Dorothy I. Fennell. With a chapter by Peter K. C. Austwick. Williams and Wilkins, Baltimore, 1965. Xii + 686 pp. Illus. \$20. | Science.* (s. d.). Consulté 14 juin 2025, à l'adresse <https://www.science.org/doi/10.1126/science.150.3697.736.b>
70. Tralamazza, S. M., Piacentini, K. C., Iwase, C. H. T., & Rocha, L. D. O. (2018). Toxigenic *Alternaria* species : Impact in cereals worldwide. *Current Opinion in Food Science*, 23, 57-63. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.05.002>
71. Turner, N. W., Subrahmanyam, S., & Piletsky, S. A. (2009). Analytical methods for determination of mycotoxins : A review. *Analytica Chimica Acta*, 632(2), 168-180. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.11.010>
72. Van Der Merwe, K. J., Steyn, P. S., & Fourie, L. (1965). 1304. Mycotoxins. Part II. The constitution of ochratoxins A, B, and C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* wilh. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 7083. <https://doi.org/10.1039/jr9650007083>
73. Visagie, C. M., Houbraeken, J., Frisvad, J. C., Hong, S.-B., Klaassen, C. H. W., Perrone, G., Seifert, K. A., Varga, J., Yaguchi, T., & Samson, R. A. (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, 78, 343-371. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.001>
74. Visagie, C. M., Varga, J., Houbraeken, J., Meijer, M., Kocsubé, S., Yilmaz, N., Fotedar, R., Seifert, K. A., Frisvad, J. C., & Samson, R. A. (2014). Ochratoxin production and taxonomy of the yellow aspergilli (*Aspergillus* section

Référence bibliographique

- Circumdati*). *Studies in Mycology*, 78(1), 1-61.
<https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.07.001>
75. Wu, Q., Dohnal, V., Huang, L., Kuca, K., Wang, X., Chen, G., & Yuan, Z. (2011). Metabolic Pathways of Ochratoxin A. *Current Drug Metabolism*, 12(1), 1-10. <https://doi.org/10.2174/138920011794520026>
76. Yiannikouris, A., & Jouany, J.-P. (2002). Mycotoxins in feeds and their fate in animals : A review. *Animal Research*, 51(2), 81-99. <https://doi.org/10.1051/animres:2002012>
77. Zapašnik, A., Bryła, M., Sokołowska, B., & Waśkiewicz, A. (2025). Pleurotus spp.—an effective way in degradation mycotoxins? A comprehensive review. *Mycotoxin Research*, 41(1), 1-13. <https://doi.org/10.1007/s12550-024-00572-z>
78. Zebiri, S. (2020). *Evaluation de la contamination du blé et de ses dérivés consommés en Algérie par les champignons ochratoxinogènes et par l'ochratoxine A* [Thesis]. <http://dspace.ens-kouba.dz:8080/xmlui/handle/123456789/1495>
79. Zetina-Serrano, C., Rocher, O., Naylies, C., Lippi, Y., Oswald, I. P., Lorber, S., & Puel, O. (2020). The brlA Gene Deletion Reveals That Patulin Biosynthesis Is Not Related to Conidiation in *Penicillium expansum*. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18), 6660. <https://doi.org/10.3390/ijms21186660>
80. Zhang, L., Zhang, X., Chen, X., Zhang, W., Zhao, L., Wang, Z., & Guo, Y. (2024). Biodégradation de l'ochratoxine A par *Brevundimonas diminuta* HAU429 : Performance caractérisée, évaluation de la toxicité et enzymes fonctionnelles. *Food Research International*, 187, 114409. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114409>
81. Zinedine, A., Brera, C., Elakhdari, S., Catano, C., Debegnach, F., Angelini, S., De Santis, B., Faid, M., Benlemlih, M., Minardi, V., & Miraglia, M. (2006). Natural occurrence of mycotoxins in cereals and spices commercialized in Morocco. *Food Control*, 17(11), 868-874. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.06.001>
82. 2002 Bioforma 25 Les Moisissures D'intéret Médical | PDF | Champignons | Spore. (s. d.). <https://fr.scribd.com/document/667038643/2002-Bioforma-25-Les-Moisissures-d-Interet-Medical>