



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERHCE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA
Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie



Département De Biologie Moléculaire Et Cellulaire

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de

Master académique en biologie

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

*La recherche des Aspergillus section Flavi et
leur mycotoxine dans les arachides*

Présenté par :

Boudjema Ghalia

Devant le jury :

Présidente	RAIS.L	MCB	Université de Khenchela
Examinatrice	BOUTARFA.S	MCB	Université de Khenchela
Promotrice	AZZOUNE.N	MAA	Université de Khenchela

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciement

Tout d'abord, louange à « **ALLAH** » qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de ce travail, m'a inspiré les bons pas et les justes réflexes et m'a donné la volonté et le courage. Sans sa miséricorde, ce travail n'aurait pas abouti.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont à madame Azzoune Nadia pour ses conseils, ses encouragements, sa patience sa compétence et sa gentillesse qui nous ont permis de bien mener ce travail. Le suivi et l'orientation dont nous avons pu bénéficier.

Nos vifs remerciements à Mme RAIS LINDA qui nous a fait l'honneur de présider le jury de soutenance de ce mémoire.

Un Merci particulier à l'examinatrice de ce mémoire : Mme BOUTARFA SOUMIA pour avoir accepté d'examiner et évaluer notre travail.

Mes sincères remerciements au Professeur Nouicer Ferhat pour son dévouement, sa disponibilité, et son esprit critique et scientifique édifiant. Son aide permanente, son soutien et ses encouragements ont été plus que précieux.

Mes remerciements vont également au Professeur Bennoune Omar, pour ses orientations bénéfiques ainsi que pour sa gentillesse.

Un grand merci à Mr Ayachi Ammar Professeur en microbiologie département vétérinaire El hadj Lakhdar pour m'avoir ouvert les portes de son laboratoire, pour ses interventions et ses conseils enrichissants, un grand merci également à toute l'équipe du laboratoire de microbiologie les doctorantes : Amina Badis, Amina Djemaïoune.

Un très grand Merci à une sœur de cœur Madame Kadrine Naima, responsable du laboratoire d'histopathologie, pour son aide et ses conseils et ses interventions lors des observations au microscope.

Ce mémoire n'aurait jamais pu voir le jour sans le soutien actif des membres de ma famille.

Enfin, nous remercions tous ceux qui nous ont aidé et ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

La recherche des Aspergillus section Flavi et leur mycotoxine dans les arachides

Résumé

Les arachides constituent un substrat préférable pour les moisissures qui peuvent provoquer une altération technologique et sanitaire induisant un risque accru de contamination croisée par les mycotoxines, leur danger toxique et cancérigènes pour l'homme et l'animal. A cet effet, l'objectif de ce travail est d'étudier les populations d'*Aspergillus* section *Flavi* aflatoxinogènes et d'évaluer le pouvoir producteur d'aflatoxines (AFs) des isolats appartenant au genre *Aspergillus*. Un total de 45 échantillons d'arachides salés et sans sels décortiqués et non décortiqués commercialisés dans la région de Batna ont été prélevés. La démarche consiste à l'isolement et le dénombrement des moisissures et l'étude du pouvoir producteur d'AFs. Les résultats de l'analyse fongique de 45 échantillons ont montré que les arachides salées sont les moins contaminées de 7,14 à 17,77% et le taux de contamination le plus élevé a été enregistré dans les échantillons d'arachides décortiqués sans sel (68,88%). Les principaux genres isolés sont *Aspergillus* (57,14%) et *Penicillium* (40,4%) dans tous les échantillons. Les principales espèces isolées *Aspergillus Flavi* et *Aspergillus Nigris* sont les plus dominantes avec (37,47%), (18,26%) respectivement du total *Aspergillus*. Le screening des isolats aflatoxinogènes a été réalisé sur un milieu de culture CAM et la production est ensuite confirmée par CCM. L'étude du pouvoir producteur d'AFs a révélé un pourcentage d'isolats aflatoxinogènes de 41,66% sur CCM. La production d'aflatoxines varie considérablement d'un isolat à l'autre. Pour réduire les risques liés à la présence de ces mycotoxines dans l'alimentation, il est indispensable de veiller au respect des règles de l'hygiène telles les conditions de récolte, de conditionnement, d'emballage, d'entreposage et de stockage.

Mots clés : Aflatoxines, Arachides, *Aspergillus Flavi*, Batna, Mycotoxines.

The search for *Aspergillus* section *Flavi* and their mucotoxin in peanuts

Abstract

Peanuts are a preferred substrate for moulds that can cause technological and sanitary deterioration, leading to an increased risk of cross-contamination by mycotoxins, which are toxic and carcinogenic for humans and animals. To this end, the aim of this work is to study the populations of aflatoxinogenic *Aspergillus* section *Flavi* and to assess the aflatoxin (AFs) producing capacity of isolates belonging to the *Aspergillus* genus. A total of 45 samples of salted and unsalted peanuts, shelled and unshelled peanuts marketed in the region of Batna were taken. The approach consisted of isolating and enumerating the moulds and studying the production capacity of AFs. The results of the fungal analysis of 45 samples showed that salted peanuts were the least contaminated, ranging from 7,14 to 17,77% and the highest contamination rate was recorded in samples of unshelled shelled peanuts (68,88%). The main strains isolated were *Aspergillus* (57,14%) and *Penicillium* (40,4 %) in all samples. The main species isolated *Aspergillus Flavi* and *Aspergillus Nigri* are the most dominant with (37, 47%), (18, 26%) respectively of the total *Aspergillus*. Aflatoxinogenic isolates were screened on a CAM culture medium and production was then confirmed by CCM. The study of the producing capacity of AFs revealed a percentage of aflatoxigenic isolates of 41, 66% on CCM. The production of aflatoxins varies considerably from one isolate to another. To reduce the risks associated with the presence of these mycotoxins in food, it is essential to ensure compliance with hygiene rules such as harvesting, packaging, warehousing, and storage conditions.

Key words: Aflatoxins, *Aspergillus Flavi*, Batna, Mycotoxins, Peanuts.

البحث عن قسم *Aspergillus Flavi* و سمومها الفطرية في الفول السوداني

ملخص

الفول السوداني هو الركيزة المفضلة للفطريات التي يمكن أن تسبب تدهورا تكنولوجيا وصحيا مما يؤدي إلى زيادة خطر التلوث المزدوج بالسموم الفطرية وخطرها السام والمسرطن للإنسان والحيوان. ولهذه الغاية فان الهدف من هذا العمل هو دراسة تجمعات قسم الرشاشيات للعزلات و تقييم القوة المنتجة للأفلاتوكسين التي تنتمي إلى الرشاشيات. تم اخذ 45 عينات من الفول السوداني المملح وغير المملح المقشر وغير المقشر المسوق في منطقة باتنة. تتمثل الطريقة في عزل الفطريات وحسابها ودراسة القوة الإنتاجية للأفلاتوكسين. أظهرت نتائج التحاليل الفطري ل 45 عينة أن الفول السوداني المملح هو الأقل تلوثا من 7,14% إلى 17,77% وقد سجل أعلى معدل تلوث في عينات الفول السوداني المقشر بدون ملح (68,88%). الأجناس المعزولة الرئيسية هي *Aspergillus* (57,14%) و *Penicillium* (40,4%) في جميع العينات. وكانت الأنواع الرئيسية المعزولة *Aspergillus Flavi* و *Aspergillus Nigri* هي الأكثر انتشارا بنسبة (18,26%) و (37,47%) على التوالي من مجموع الرشاشيات. تم فحص العزلات الأفلاتوكسينية على وسط CAM ثم تم تأكيد الإنتاج بواسطة CCM وأظهرت دراسة القدرة الإنتاجية للعزلات الأفلاتوكسينية نسبة 41,66% على CCM. يختلف إنتاج الأفلاتوكسين بشكل كبير من عزلة إلى أخرى. لتقليل المخاطر المرتبطة بوجود هذه السموم الفطرية في الغذاء من الضروري ضمان الامتثال لقواعد النظافة مثل الحصاد و التعبئة و التغليف والتخزين وظروف التخزين.

الكلمات المفتاحية : الرشاشيات، السموم الفطرية ، الفول السوداني ، باتنة

Table des matières

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale 01

Partie 1 : Revue bibliographique

I. Les mycotoxines.....	03
I.1. Définition	03
I.2. Structure des mycotoxines	05
I.2.1. Les aflatoxines.....	05
I.2.2. Les ochratoxines.....	06
I.3. Mycotoxines d'importance majeure.....	06
I.4. Lamycotoxinogénèse.....	07
I.4.1. Les facteurs de la mycotoxinogénèse.....	07
I.4.1.1. Facteurs intrinsèques	07
I.4.1.2. Facteurs extrinsèques	08
I.4.1.3. Facteurs biologiques.....	11
I.5. Les mycotoxines en alimentation humaine et animale.....	12
I.6. Effets des mycotoxines sur la santé.....	12
I.7. Réglementation relative aux mycotoxines	13
I.8. Les aflatoxines.....	14
I.8.1. Définition et Origine	14
I.8.2. Structure	15
I.8.3. Propriétés physico-chimiques	17
I.8.4. Méthodes d'analyse.....	20
I.8.5. Contamination des aliments	20
I.8.6. Limites maximales pour les mycotoxines dans les aliments dans certains pays européens et les USA.....	21
I.8.7. Toxicité	22
I.8.7.1. Mécanisme d'action toxique	22
I.8.7.2. Effets toxiques.....	23
I.9. Réglementation	25
I.9.1. A l'échelle nationale.....	25

I.9.2. Al'échelle internationale	26
II. Les moisissures	28
II.1. Généralités	28
II.2. Taxonomie et classification	29
II.3. Ecologie des champignons.....	29
II.4. Identification	30
II.4.1. Identification morphologique.....	30
II.4.2. Identification biochimique	32
II.4.3. Identification moléculaire	32
II.5. Principaux moisissures mycotoxinogènes	33
II.5.1. Généralités	33
II.5.2. Le genre <i>Aspergillus</i>	34
II.5.2.1. Définition	34
II.5.2.2. Caractères morphologiques d'identification du genre <i>Aspergillus</i>	35
II.5.2.2.1. Description macroscopique.....	35
II.5.2.2.2. Description microscopique	36
II.5.3. <i>Aspergillus</i> section <i>Flavi</i>	37
II.5.3.1. <i>Aspergillus flavus</i>	38
II.5.3.2. <i>Aspergillus parasiticus</i>	38
III. L'arachide.....	39
III.1. Généralité et Définition	39
III.2. Origine	39
III.3. Classification taxonomique	40
III.4. Composition chimique des arachides	40
III.5. Description et présentation botanique	41
III.6. Utilisation d'arachide	42
III.6.1. En alimentation humaine	42
III.6.2. En alimentation animale	43
III.6.3. En agriculture	43
III.6.4. Utilisation médicinale.....	43
III.7. Importance économique de l'arachide dans le monde.....	44
Partie 2: Matériel et Méthodes.	
Matériel.....	45
I.1. Objectif du travail.....	45

I.2.Date et lieu de travail	45
I.3.Echantillonnage.....	45
I.4.Précautions d'échantillonnage.....	46
I.5.Préparation des milieux de culture	46
I.6.Matériels et appareils	47
II. Isolement de la flore fongique	47
II.1. Méthode indirecte	47
II.2.Repiquage et purification.....	47
II.3. Identification des isolats	48
II.3.1. Identification macroscopique.....	49
II.3.2. Identification microscopique	49
II.3.2.1. Prélèvement ordinaire	49
II.3.2.2.Prélèvement direct avec un ruban adhésif transparent.....	49
III..Analyse mycotoxique.....	50
III.1 Détection des aflatoxines par fluorescence sur milieu de culture	50
III.2 Extraction des AFs du milieu de culture	50
III.3 Détection et confirmation des AFs du milieu de culture	51

Partie 3 : Résultats et Discussion

Résultats	53
I. Isolement de la flore fongique.....	53
I.1. Isolement et dénombrement de la flore fongique.....	53
I.2.Distribution des isolats <i>d'Aspergillussection Flaviet d'Aspergillussection Nigri</i>	57
II.Etude du pouvoir de production d'aflatoxines sur milieu CAM et par CCM.....	58
II.1. Les souches aflatoxinogènes isolées des échantillons d'arachides.....	60
Discussion.....	62
Conclusion générale et perspectives.....	66
Références bibliographiques.....	68

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADNr : Acide Désoxyribonucléique rÉbosomalique

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

AFS:Aflatoxines

AFB:Aflatoxine Blue

AFG:Aflatoxine Green

AFM : Aflatoxine Milk

Ar : Arachide

ARN : Acide Ribonucléique

AW : Activité de l'eau

CE : Comité Européen

CIRC : Centre international de recherche sur le cancer

CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance

CO₂ : Dioxyde de carbone

COA : Coenzymz A

CMA : Concentration Maximales Autorisées

IARC : Agence Internationale de la recherche sur le cancerITS

FA/FB/FC/FP:Fumosines A,B,C et P

FAO : Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

FUM : Fumonisines

N : Nord

NACL : Hypochlorite de sodium

NH₄OH : Amoniac

O₂ : Oxygène

OMS : Organisation mondial de santé

OTA : Ochratoxine A

OTB : Ochratoxine B

OTC : Ochratoxine C

PAT :Patuline

pH : Potentiel Hydrogène

PKS :Polycétoacides Synthase

PM : Poids Moléculaire

RF : Facteur de Rétention

S : Sud

UV : Ultra Violet

ZEN : Zéralénone

Liste des figures

Figure n°01 : Structure de l'aflatoxine B1 et de la stérigmatocystine	05
Figure n°02 : Structure chimique de l'ochratoxine A	06
Figure n° 03 : Structure chimique des principales aflatoxines.....	16
Figure n° 04 : Représentation schématique des têtes aspergillaires modifiée	37
Figure n° 05 : Graine d'arachide	42
Figure n°06 : Représentation schématique de la procédure expérimentale utilisée pour l'analyse fongique	48
Figure n°07 : Schéma du protocole d'extraction des aflatoxines à partir des isolats cultivés sur milieu CAM.....	51
Figure n°08 : Colonies des moisissures poussant sur milieu DRBC après 5 jours d'incubation à 28°C	54
Figure n°09 : Pourcentage de contamination fongique obtenue à partir des arachides	55
Figure n° 10 : Pourcentage des isolats obtenus à partir des arachides analysés	55
Figure n° 11 : Fréquence du genre <i>Aspergillus</i> dans les échantillons analysés	56
Figure n° 12 : Fréquence du genre <i>Penicillium</i> dans les échantillons analysés	56
Figure n° 13 : Fréquence des <i>Aspergillus</i> section <i>Flavi</i> dans les échantillons analysés	57
Figure n° 14 : Fréquence des <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> dans les échantillons analysés	58
Figure n°15 : Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus section flavi</i> sur milieu CYA	58
Figure n°16 : Mise en évidence par fluorescence sous UV de la production des AFs	59
Figure n°17 : Mise en évidence par fluorescence bleue sous lumière UV de la production des AFs par <i>Aspergillus flavus</i> sur CCM	59
Figure n°18 : Fréquence des isolats genre <i>Aspergillus</i> section <i>Flavi</i> producteurs d'AFs en fonction de type de produit.....	60
Figure n°19 : Fréquence des isolats producteurs d'AFs en fonction des régions	61

Liste des tableaux

Tableau n°01 : Quelques mycotoxines et les moisissures productrices, produits alimentaires associés et leur distribution géographique.....	04
Tableau n° 02 : Mycotoxine majeur.....	06
Tableau n° 03 : Températures et activités de l'eau optimales pour la production des mycotoxines.....	09
Tableau n°04 : Impact de la restriction d'O ₂ sur <i>Fusarium proliferatum</i> et la production de B1	10
Tableau n°05 : Effets identifiés ou suspectés des principales mycotoxines et mécanismes d'action cellulaires identifiés expérimentalement	13
Tableau n°06 : Principale réglementation européennes concernant les teneurs limites en mycotoxines dans l'alimentation humaine et animale.....	14
Tableau n°07 : Principales aflatoxines produites par les espèces du genre <i>Aspergillus</i>	16
Tableau n°08 : Le poids moléculaire, facteur de rétention calculé sur gel de silice 60, points de fusion et spectre d'absorption sous UV des aflatoxines	18
Tableau n°09 : Limites maximales pour les mycotoxines dans les aliments dans certains pays européens et les USA	21
Tableau n°10 : Limites réglementaires algériennes des AFS dans les produits d'alimentations humaine et animale	25
Tableau n°11 : Teneurs maximales en aflatoxines exprimées en µg/kg.....	26
Tableau n°12 : Position systématique de l' <i>Arachis hypogea</i> L.....	40
Tableau n°13 : Composition chimique des arachides selon le codex alimentarius	40
Tableau n°14 : La production mondiale des arachides	44
Tableau n°15 : Codes des échantillons prélevés	45
Tableau n°16 : Représentation des TC et densité de la flore fongique des différents échantillons.....	54

Introduction générale

Introduction générale

L'homme se nourrit d'aliments d'origine animale ou végétale, crus ou cuits qu'il trouve dans son environnement de la nature ou transformés par l'industrie alimentaire. Tous ces aliments risquent de devenir de véritables vecteurs de maladies lorsqu'ils renferment des substances chimiques toxiques ou des agents pathogènes biologiques (virus, bactéries, champignons) (Lahouar, 2016). D'après l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, environ 25% des récoltes mondiales des produits alimentaires sont contaminées par les mycotoxines (**FAO, 2004**).

Les mycotoxines sont des produits issus du métabolisme secondaire des moisissures. La croissance des moisissures et l'accumulation des mycotoxines dans les aliments peut se produire au champ, pendant la récolte ou pendant le stockage, dès que les conditions de température et d'humidité sont favorables (**Kader et Hussein, 2009 ; Turner et al., 2005**).

Les aflatoxines font partie des mycotoxines les plus toxiques et sont produites par certaines moisissures *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus* qui se développent sur le sol, la végétation en décomposition, le foin et les graines. Les récoltes souvent touchées sont les céréales (maïs, sorgho, blé, et riz), les graines oléagineuses (soja, arachide, tournesol et coton), les épices et les fruits secs oléagineux (**Trucksess et Scott, 2008**). Les principales aflatoxines produites dans les aliments sont, les aflatoxines B1, B2, G1 et G2. L'aflatoxine B1 (AFB1) est considérée comme la plus toxique et la plus abondante (**Lai et al., 2015**). Elle est connue pour ses effets tératogènes et mutagènes, causant des dommages, principalement au niveau du foie (**Hamid et al., 2013**). En effet, elle a été classée par l'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer dans le groupe 1 des substances cancérigènes pour l'homme (**IARC, 2002**).

L'arachide est la troisième culture, la quatrième source d'huile comestible et la troisième source importante de protéines végétales sur le plan mondial (**Faostat, 2011**). En Algérie la culture d'arachide malgré son importance économique n'est pas pratiquée à grande échelle ce qui a imposé sa grande importation. La culture d'arachide n'a pas connu d'évolution significative depuis 1998 à 2005 tant sur le plan des superficies cultivées que des productions. La production d'arachide en Algérie est principalement vouée à la consommation de graines (**Aguiba et Messai Belgacem, 2015**).

La gestion du risque passe donc par la prévention de la contamination des matières premières, le respect des bonnes pratiques de culture et de stockage, ainsi que la mise en place d'une réglementation fixant des concentrations maximales admissibles dans les

denrées alimentaires.

Afin d'analyser les risques de contamination par les mycotoxines et de définir les mesures permettant de les maîtriser, il est nécessaire d'étudier d'une manière approfondie les espèces fongiques toxigènes, d'évaluer leurs capacités de production des mycotoxines et de doser ces mycotoxines dans les produits. Le genre *Aspergillus* est à l'origine de la contamination de nombreuses denrées d'origine végétale par les aflatoxines.

C'est dans cette optique que se situe notre étude dont les objectifs principaux se résument dans les volets suivants :

- Collecte des informations sur la contamination des denrées alimentaires par les moisissures.
- Isolement et identification des espèces *d'Aspergillus* section Flavi ayant la capacité à produire des aflatoxines.
- Confirmation de la production d'aflatoxine par les isolats sur milieu CAM et par CCM

La présente étude comporte, une première partie consacrée à la synthèse bibliographique qui a pour but de décrire et d'étudier les mycotoxines présentant une description détaillée des champignons producteurs d'aflatoxines et les effets les plus délétères et leur impact sur la santé et les champignons mycotoxinogènes ainsi quelques informations sur les arachides y sont également rapportées.

La deuxième partie est consacrée au matériel et méthodes utilisés dans cette étude. La démarche globale consiste à isoler et dénombrer les moisissures contaminant l'arachide. Les principaux genres potentiellement aflatoxinogènes sont identifiés morphologiquement et sur milieu CAM.

Dans la troisième partie, nous présentons les principaux résultats et discussions et nous terminons avec une conclusion et perspectives

Revue bibliographique

I. Les Mycotoxines

I.1. Définition

Le terme mycotoxine vient du grec «mycos» qui signifie champignon et du latin « toxicum » qui signifie poison (**Jouanyet al., 2009**). Les mycotoxines sont considérées comme les contaminants salimentaires les plus significatifs en termes d'impact sur la santé publique et l'économie de nombreux pays (**Lewis et Goodrich-Schneider, 2012**).

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires toxiques de faible poids moléculaire produits par des champignons filamenteux, plus particulièrement par ceux appartenant aux genres *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* (**Marin et al., 2013; A. Elkhoury, 2007**). Ces métabolites sont non-essentiels au cycle de la vie du champignon mais une fois produits, ils pourraient lui conférer certains avantages compétitifs (**FoxetHowlett, 2008**). Il existe environ 300 à 400 mycotoxines identifiées (**Eldemiret al., 1999**). Parmi les groupes de mycotoxines considérées comme importantes du point de vue agroalimentaire et sanitaire, les aflatoxines (AFs), l'ochratoxine A (OTA), la patuline (PAT), les fumonisines (FUM, surtout FB1), la Zéralénone (ZEN) et les trichothécènes (HT-2, Toxin-T2 et deoxynivalénol DON) (**Galtier et al., 2006; Paterson, 2006**).

Ces toxines se retrouvent à l'état de contaminants naturels de nombreuses denrées d'origine végétale : notamment les céréales mais aussi les fruits, noix, amandes, arachides, grains, fourrage, ainsi que les aliments manufacturés ou composés destinés à l'alimentation humaine et animale (**Pierre, 2005 ; Ji et al., 2016; Campagnollo e tal., 2016**).

Les mycotoxines ne sont pas des protéines et ne sont pas directement codées par des gènes. Elles sont les produits terminaux de voies de biosynthèse longues et complexes constituées de séries de réactions enzymatiques successives. L'origine chimique des mycotoxines est très variée. Certaines dérivent des acides aminés (alcaloïdes de l'ergot, acide aspergillique, gliotoxine, roquefortine) d'autres dérivent des polycétolides (aflatoxines, ochratoxine, patuline, citrinine, Zéralénone). D'autres sont des dérivés terpéniques (diacétoxyscirpénol, fusarénone, deoxynivalénol, Toxin-T2, verrucarine) (**Pinton, 2012**).

Elles sont très stables dans les milieux acides et aux températures élevées, peu solubles dans l'eau et difficilement métabolisées par les organismes vivants (**Gacem, 2011**).

Tableau n°01: Quelques mycotoxines et les moisissures productrices, produits alimentaires associés et leur distribution géographique (Smith *et al.*, 2016).

Mycotoxine	Moisissures productrices	Produits alimentaires	Distribution géographique
Aflatoxines	Aspergillus (bombycis, flavus, nomius, ochraceoroseus, parasiticus, parvisclerotigenus, pseudotamarii, rambellii, toxicarius).	Céréales et produits à base de céréales (principalement le maïs), noix, Fruits secs, épices, lait et produits laitiers, viande, œufs.	Régions tempérées, tropicales et subtropicales (Sud de l'Asie et Afrique).
Ochratoxine A	Aspergillus (alliaceus, auricomus, carbonarius, cretensis, flocculosus, glaucus, lacticoffeatus, meleus, niger, ochraceus, pseudoelegans, roseoglobulosum, sclerotioniger, sclerotiorum, steynii, sulphureus, westerdijkiae); Penicillium (nordicum, verrucosum).	Céréales et les produits scéréaliers (principalement riz et blé), café, Fèves de cacao; Vin, bière, fruits secs, épices, viande.	Régions tempérées, régions tropicales (Amérique, Europe du Nord et de l'Ouest, Afrique et Sud d'Asie).
Trichothécènes Zéralénone	Fusarium (acuminatum, armeniacum, culmorum, crookwellense, equisetii, graminearum, kyushuense, langsethiae, poae, pseudo graminearum, sambucinum, scirpi, sporotrichioides, venantum). Fusarium (crookwellense, culmorum, equiseti, graminearum, incarnatum,	Céréales et les produits à base de céréales.	Régions tempérées du nord (Europe, Amérique et Asie).

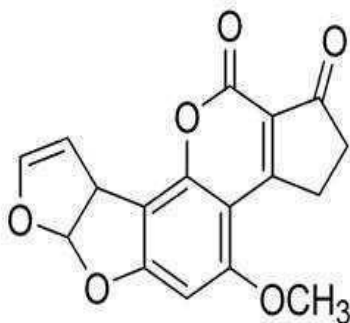
	Pseudo graminearum, semitectum, sporotrichioiles, verticillioides).		
Fumonisines	Fusarium (anthophilum, dlamini, fujikuroi, globosum, napiforme, nygamai, oxysporum, polyphialidicum, proliferatum, pseudonygamai, thapsinum, verticillioides).	Céréales et les produits à base de céréales.	Régions tempérées du nord (Europe, Amériqueet Asie).

I.2. Structure des mycotoxines

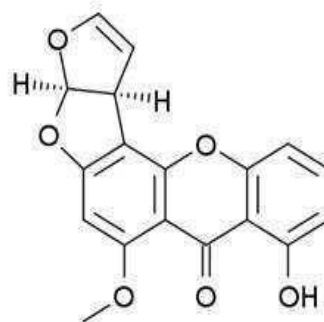
Les mycotoxines sont des métabolites de faible poids moléculaire, généralement inférieur à 500g/mol qui ont, pour la plupart, une structure hétérocyclique. Nous citons quelques exemples de mycotoxines les plus connues.

I.2.1. Les aflatoxines

Produites par plusieurs *Aspergillus* comme *A. parasiticus* entre 25 et 36°C (Molina et gianuzzi., 2002). Ce sont des dérivés coumariniques. Elles sont stables en milieu polaire organique (DMSO, Méthanol, chloroforme). Les aflatoxines dérivent de la stérigmatocystine.



Structure de l'aflatoxine B1



Structure de la stérigmatocystine

Figure n°01: Structure de l'aflatoxine B1 et de la stérigmatocystine.

I.2.2. Les ochratoxines

Produites par les genres *Penicillium* et *Aspergillus* comme par exemple *Penicillium viridicatum*, *P. verrucosum*, *A. ochraceus*, *A. niger*. ce dernier produit l'ochratoxine A à une température optimale entre 20 et 25 °C (Estebanet *al.*, 2004). Les ochratoxines résultent de la condensation d'un résidu phénylalanine et d'un dérivé isocoumarinique.

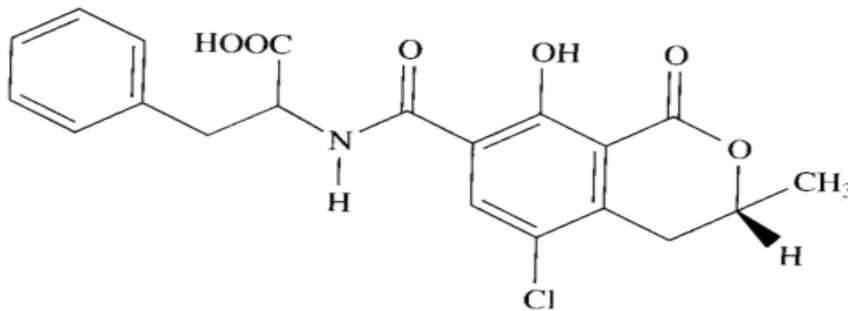


Figure n°02: Structure chimique de l'ochratoxine A (OTA)

I.3. Mycotoxines d'importance majeure

On trouvera dans le tableau les moisissures et les mycotoxines actuellement considérées comme ayant une importance à l'échelle mondiale. Sont considérées comme "importantes" les mycotoxines qui ont montré qu'elles pouvaient avoir des effets sensibles sur la santé humaine et la productivité animale dans divers pays.

Tableau n°02: mycotoxine majeur (FAO., 1992).

Types de moisissures	Mycotoxines
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxines B1, B2, G1, G2
<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxines B1, B2
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	Toxine T2
<i>Fusarium graminearum</i>	Déoxynivalénol, Zéralénone
<i>Fusarium moniliforme</i>	Fumonisine B1
<i>Penicillium verrucosum</i>	Ochratoxine A
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Ochratoxine A
<i>Penicillium expansum</i>	Patuline

I.4. La mycotoxinogénèse

La mycotoxinogénèse est définie comme étant l'ensemble de facteurs de synthèse et d'excrétion des mycotoxines. La synthèse des mycotoxines, encore appelée toxinogénèse, est un processus d'une grande complexité. Il semblerait qu'il s'agisse d'une réaction du champignon face à des conditions environnementales stressantes (température, humidité trop élevées ou trop basses) (**Gherras et Elhimer., 2017**).

La production des mycotoxines peut avoir lieu à tous les stades de la chaîne alimentaire depuis le champ jusqu'au produit fini. Leur production peut survenir avant la récolte, lors du transport, pendant le stockage ou au cours de la transformation (**Pfohl-Leszkowicz, 1999**).

I.4.1. Les facteurs de la mycotoxinogénèse

La production des mycotoxines est directement liée à la croissance fongique. Par conséquent, les facteurs capables d'influencer la croissance fongique vont aussi jouer un rôle sur la toxinogénèse. D'une manière générale, les conditions environnementales nécessaires à la production de Mycotoxines sont plus étroites que celles permettant la croissance fongique.

Le type de mycotoxines contaminant les aliments et quantité produite dépendent de tous ces éléments mais aussi de la stabilité des toxines dans le milieu alimentaire. En plus des facteurs environnementaux ou extrinsèques. La sécrétion des métabolites secondaires par les souches fongiques toxinogènes dans les aliments dépend également d'autres facteurs liés à la nature de la souche, dis intrinsèques. Ainsi, la production de mycotoxines est une conséquence combinée des propriétés génétiques de la souche et des facteurs environnementaux (**Olsen et al., 2003 ; Blumenthal., 2004**).

I.4.1.1. Facteurs intrinsèques

Il n'existe pas de relation directe entre espèce fongique et mycotoxine. Une même molécule peut être produite par plusieurs espèces fongiques appartenant à des genres différents (**Pardo et al., 2005**). Par exemple, l'*ochratoxine A (OTA)* est produite par *Penicillium nordicum*, *P. verrucosum* (**Olsen et al., 2003**), *Aspergillus ochraceus* (**Vander Merwe et al., 1965**), *Aspergillus niger* (**Abarca et al., 1994**) et *Aspergillus carbonarius* (**Horie, 1995**). Certaines espèces peuvent produire plusieurs mycotoxines comme par exemple *Aspergillus flavus* qui peut produire entre autres des aflatoxines, l'acide cyclopiazonique, l'aspertoxine (**Royer et Tap., 2004**). Cependant, certaines mycotoxines

sont étroitement liées à certaines espèces fongiques, comme les aflatoxines (*A. Flavus* et *A. parasiticus*) et les sporidesmines (*Pithomyceschartarum*) (Fitzgerald *et al.*, 1998).

Parmi les espèces réputées toxigènes, toutes les souches n'ont pas forcément la capacité à produire les mycotoxines. De ce fait, la présence des champignons toxigènes sur une denrée n'est pas nécessairement le signe d'une contamination par des mycotoxines, la production de mycotoxines par le champignon aura lieu uniquement si les conditions environnementales favorables à cette contamination sont réunies (Castegnaro et PfohlLeskowitz, 2002). Le taux initial de la pollution par une espèce toxigène est important car il reflète le risque d'imprégnation toxique c'est à dire que plus le taux sera élevé plus le risque sera important.

En fin pour éviter toutes contaminations il faut que la propreté de la récolte, du matériel de manutention et de stockage soit quasi irréprochable (Royer et Tap ., 2004).

I.4.1.2. Facteur extrinsèque

La production des mycotoxines est influencée par l'interaction complexe de plusieurs facteurs extrinsèque ou environnementaux (Bousetaet *al.*, 2005) , ces facteurs sont d'origine chimique, physique, physico chimique ou biologique (Mitchell *et al.*,2004). Cependant, ces facteurs agissent rarement d'une façon indépendante (Lacy, 1986).

✓ Facteurs physiques :

- Activité de l'eau (*aw*)

L'activité de l'eaureflète la quantité d'eau disponible dans une substance liquide ou solide. Elle permet de rendre compte de la quantité d'eau « libre », indispensable aux reactions biochimiques d'un micro organisme. L'*aw* permet de donner des informations importantes sur la stabilité physico chimique d'un produit et sur son inocuité microbiologique (Gautier, 2016) .La disponibilité en eau nécessaire à la toxigenèse est généralement supérieure à celle permettant la croissance fongique (PfohlLeszkowitz, 2001). Par exemple, *Penicilium verrucosum* peut se développer peut être à partir d'une *aw* de 0,80, par contre la production d'OTA par cette espèce n'est possible que lorsque l'*aw* est supérieur (Cairus Fuller *et al.*, 2005).

La formation des aflatoxines par *Aspergillus flavus* nécessite une valeur d'*aw* comprise entre 0,83 et 0,87 mais la croissance du micro organisme peut avoir lieu à des valeurs d'*aw* plus basses de l'ordre de 0,73 (Magan *et al.*, 2011; Troller,1980).

- **Température**

La température est un facteur prépondérant de la croissance des micromycètes et donc de la production de toxines. La température idéale de croissance d'un champignon ne correspond pas à celle de la toxine. De manière générale, elle est supérieure à la température optimale de la toxinogénèse (Pfohl-Leszkowicz, 1999). Pour *Penicillium viridicatum* (producteur d'ochratoxine A), sa croissance a lieu pour une température comprise entre 0 et 31 °C et pour un a_w de 0,9 alors que la synthèse d'Ochratoxine A n'est possible qu'à une température comprise entre 12 et 24°C (Gautier, 2016). Pour les aflatoxines, une production optimale de est observée à des températures proches de 30°C (28 à 35°C). Lorsque la température augmente au dessus de 36°C, la production des aflatoxines est presque complètement inhibée (Yu, 2012).

Tableau n°03 : Températures et activités de l'eau optimales pour la production des mycotoxines (Neme et Mohammed, 2017).

Mycotoxine	Température (°C)	Activité de l'eau (a_w)
Aflatoxine	33	0,99
Ochratoxine	25-30	0,98
Fumonisine	15-30	0,9 - 0,995
Zéralénone	25	0,96
Deoxynivalenol	26-30	0,995
Citrinine	20-30	0,75 - 0,85

- **Lumière**

Bien que l'impact de la lumière n'ait pas été démontré sur la croissance des moisissures, il semblerait tout de même qu'elle intervienne sur la germination des spores, favorisant de ce fait la dissémination fongique (Tabuc, 2007). Certaines espèces ne peuvent pas se passer de lumière tandis que d'autres la fuient : chez *Verticilliummagricinum*, l'exposition prolongée aux rayons ultraviolets peut limiter la croissance voire provoquer la mort du mycélium (Gautier, 2016).

- ✓ **Facteurs chimiques**

- **Acidité du milieu – pH**

Comme pour l' a_w , la gamme de pH permettant la toxinogénèse est plus restreinte que celle permettant la croissance fongique (Pfohl-leszkowicz, 1999). Les moisissures peuvent croître dans une gamme de pH optimal de croissance étant plutôt situé entre 5 et 6. Les aliments ayant un pH inférieur à 6, se trouvent être des cibles privilégiées de l'infestation

fongique (**Gautier, 2016**). A l’instar du couple température /*aw*, l’intervalle de pH permettant une croissance fongique optimale est plus étendu que celui permettant la synthèse de toxines. Ainsi, la Fumonisine B1 est la plus produite à pH= 3,7 tandis que la croissance de sa moisissure productrice, *Fusarium proliferatum*, s’effectue préférentiellement à pH = 5,6 (**Blackwell et al., 1994**). Une faible valeur de pH joue un rôle dans la régulation de la production des stérigmatocystine et des aflatoxines par les *Aspergillus* (**Gardiner et al ., 2009**).

- **Composition gazeuse :**

La production de toxines fongiques est plus sensible à la variation de composition gazeuse que la croissance fongique. Une concentration en O₂ inférieure à 1% et des concentrations élevées de dioxyde de carbone (CO₂) empêchent la synthèse de toxines. (**Keller et al., 1997; Cairns-Fuller et al., 2005**) et d’après **Pfohl-leszkowicz, 1999** sont efficaces pour prévenir la formation des mycotoxines (Tableau n°04) .

Tableau n°04 : Impact de la restriction d’O₂ sur *Fusarium proliferatum* et la production de B1 (**Keller et al., 1997**).

Biomasse g/l	FB1 µg/g	
Présence d’O ₂	14, 1+ _{0, 5}	533+ _{88,4}
Absence d’O ₂	4, 3+ _{0, 3}	Non décelable

En plus de diminuer la synthèse de FB1, le taux d’O₂ affecte également la croissance du champignon. Ainsi, l’absence de dioxygènes rend indécelable la synthèse de Fumosine B1 (**Gautier, 2016**). L’augmentation de la teneur en CO₂ (20%), surtout si elle est associée à une réduction en oxygène, provoque une chute importante de la production des aflatoxines (**Giorni et al., 2008**).

Après conservation dans une atmosphère confinée, dans laquelle les moisissures ne peuvent plus ou moins se développer, la remise à l’air libre ou la ventilation provoque rapidement une intense toxino-génèse (**Le Bars et Le Bars, 1987**).

- **Nature du substrat**

La toxino-génèse dépend fortement de la composition chimique du substrat sur lequel le champignon prolifère (**Madhyastha et al ., 1990**). La composition qualitative et quantitative des substances peut influencer la production des mycotoxines. La présence de quelques substances dans les aliments, comme le saccharose et les acides aminés, stimule la croissance fongique ainsi que l’élaboration des mycotoxines (**cocolin et al ., 2002**). La

présence de certaines molécules dans le substrat peut aussi influencer la production des mycotoxines. Par exemple l'acide phytique (souvent présent dans les céréales) diminue la synthèse d'Aflatoxines (AF) par *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus flavus*. A l'inverse, certains acides aminés (comme la proline) stimulent cette production. (Madhyastha *et al.*, 1990).

I.4.1.3. Facteurs biologiques

✓ -Interaction entre micro-organismes

La présence simultanée, dans le 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. Certaines micro-organismes peuvent aussi modifier les conditions environnementales, les rendant ainsi défavorables pour la toxinogénèse (Lacey, 1986).

De cette manière, il existe une compétition entre *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus flavus*. Lorsque que ces deux moisissures sont en présence, on observe une augmentation de la production d'Aflatoxines, tandis que les Ochratoxines sont peu sécrétées voire totalement absentes. Ce phénomène s'explique par la monopolisation de la source de phénylalanine par *Aspergillus flavus*. L'OTA étant un analogue structural de cet acide aminé, elle ne peut alors plus être synthétisée (Bouraima *et al.*, 1993).

✓ Présence d'acariens et insectes :

Les insectes et les 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 favorise la prolifération de micromycètes ainsi que la production de toxines (Farrar et Davis., 1991). La contamination des grains sains se produit lorsque des acariens arrivent en contact avec ces grains. Il intervient aussi bien avant la récolte qu'au cours de la conservation. L'infestation de l'arachide, du coton et du maïs, par *Aspergillus flavus* avant la récolte, est souvent liée à l'agression du végétal par des insectes (Le Bars, 1988).

-Mycoflore

L'association d'autres espèces fongiques à une souche toxigène a généralement un effet dépressif sur la production de toxine pour 2 raisons principales :

-d'une part, en fonction du contexte écologique, il existe une compétition pour le substrat.

- d'autre part, certaines souches peuvent dégrader la toxine (Moreau, 1994).

✓ **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 (Lipps et Deep, 1991). Les mesures de stockage jouent également un rôle dans le développement des toxines fongiques.

I.5. Les mycotoxines en alimentation humaine et animale

Les moisissures toxigènes peuvent se développer et produire des mycotoxines, sur tous les supports solides ou liquides dès que les conditions favorables sont réunies (Bullerman et Bianchini, 2007). Les mycotoxines peuvent contaminer de nombreux produits alimentaires comme les céréales (maïs, blé, riz, orge, etc), les graines oléagineuses (arachides, coton), les fruits secs (pistaches, noix, figes séchées, etc), les épices, etc (Marin *et al.*, 2013).

L'exposition aux mycotoxines et aux champignons s'effectue essentiellement par ingestion d'aliments contaminés. Néanmoins, une exposition par inhalation ou par voie cutanée demeure possible. Les mycotoxines n'étant pas volatiles aux basses températures, une contamination par voie respiratoire peut se produire lors de l'inhalation de particules contenant des toxines (Brochard et Le Bacle, 2009). Les mycotoxines entraînent des pertes économiques considérables chaque année. Leur présence provoque une diminution de la qualité et de la disponibilité en volume des grains récoltés. L'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) estime qu'environ 25% des récoltes mondiales sont contaminées par les mycotoxines (Ji *et al.*, 2016 ; Eivazzadeh-Keihan *et al.*, 2017).

I.6. Effets des mycotoxines sur la santé

Les différentes mycotoxines induisent des effets différents : certaines exerçant un pouvoir hépatotoxique voire cancérigène, d'autres se révélant mutagènes, immunologiques, néphrologiques, neurotoxiques ou nécrosants (Liu et Wu, 2010; Untermann, 1998; Gelderblom *et al.*, 2002; Wangigar *et al.*, 2005). Le tableau 5 résume les effets et les mécanismes d'action des principales mycotoxines.

Tableau n°05 : Effets identifiés ou suspectés des principales mycotoxines et mécanismes d'action cellulaires identifiés expérimentalement (AFSSA, 2009).

Toxine	Effets	Mécanismes d'action cellulaire et moléculaire
Aflatoxines B1 +B2	Hépatotoxicité. Génotoxicité. Cancérogénicité. Immunomodulation.	Formation d'adduit à l'ADN. Péroxydation lipidique. Bioactivation par le cytochrome P450. Conjugaison aux GS-transférases.
Ochratoxine A	Néphrotoxicité. Génotoxicité. Immunomodulation.	Impact sur la synthèse des protéines. Inhibition de la production d'ATP. Détoxification par les peptidases.
Patuline	Neurotoxicité. Mutagenèse in vitro.	Inhibition indirecte d'enzymes.
Trichothécènes (toxine T-2, déoxynivalénol, etc)	Hématotoxicité. Immunomodulation. Toxicité cutanée.	Induction de l'apoptose sur progéniteur. Tissu hématopoiétique et cellules immunitaires. Impact sur la synthèse des protéines. Altération des immunoglobulines.
Zéralénone	Fertilité et reproduction.	Liaison aux récepteurs oestrogéniques. Bioactivation par des réductases. Conjugaison aux glucuronyltransférases.
Fumonisine B1	Lésion du système nerveux central. Hépatotoxicité. Génotoxicité. Immunomodulation.	Inhibition de la synthèse de céramide. Altération du rapport sphinganine/sphingosine. Altération du cycle cellulaire.

I.7.Réglementation relatives aux mycotoxines

De nombreux pays (environ une centaine) ont adopté des réglementations concernant les teneurs en toxines fongiques dans les denrées destinées à l'alimentation humaine et animale. Des règles ont tout d'abord été édictées au niveau national, Puieuropéens. C'est le règlement européen N° 1881/2006 du 19décembre 2006 (**Européen Union, 2006**), qui fixe les concentrations maximales autorisées (CMA) de mycotoxines dans les denrées alimentaires humaines.

Ces limites sont fixées pour les céréales brutes et les produits transformés. Les denrées dépassant les CMA, pour une toxine spécifique, ne peuvent pas être mises sur le marché de l'alimentation (Gautier, 2016).

Tableau°06 : Principales réglementation européenne concernant les teneurs limites en mycotoxines dans l'alimentation humaine et animale (Galtier *et al.*, 2006).

Toxine	Règlement européen	Aliment	Teneurs limites
Alimentation humaine	CE466/2001 et CE257/2002	Céréales et dérivés	4 µg/kg
Aflatoxine B1	472/2002 257/2002 472/2002	Arachides,Fruits Epices Lait	2à15 µg/kg 5 à 10 µg/kg 0,05 µg/kg
Aflatoxine M1	1425/2003	Céréales, Fruits,Vin	5 à 10 µg/kg
Ochratoxine A	856/2005	Pomme et dérivés	10 à 50 µg/kg
Patuline	856/2005	Céréales et dérivés	200 à 1750 µg/kg
Déoxynivalénol	856/2005	Céréales et dérivés	200 à 2000 µg/kg
Fumonisine	856/2005	Céréales et dérivés	20 à 200 µg/kg
Zéaralénone	N'est pas déterminé	Céréales et dérivés	En attente
Toxine T-2			
Alimentation animale	32/2002	Céréales, autres céréales	5 à 50 µg/kg 1000 mg/kg
Aflatoxines			
Ergot de seigle			

I.8. Les aflatoxines

I.8.1. Définition et Origine

Le nom aflatoxine est un acronyme formé de la combinaison de la lettre « A » pour *Aspergillus* et « FLA » pour flavus .ce nom est issu de l'espèce impliquée dans la contamination des aliments responsables de la Turkey « X » disease : *Aspergillus flavus*. On y associe le mot anglais « TOXIN » signifiant poison (A.elkhoury, 2007; Bhat *et al.*, 2010).

Les aflatoxines (AFs) sont des métabolites hautement toxiques produites par différentes espèces fongiques toxigènes (*Aspergillus flavus*, *A.parasiticus*.....). Ces contaminants naturels de l'alimentation humaine et animale sont à la base de divers problèmes tels que les déficiences nutritionnelles, l'immunosuppression, le cancer du foie, les effets mutagènes et tératogènes (Wagacha et Muthomi., 2008). Elles ont été isolées pour la première fois en Angleterre en 1960, suite à des intoxications dans un élevage des

dindonneaux (Adams *et al.*, 2002; Chapeland-Leclerc *et al.* , 2005). Elles prolifèrent dans les atmosphères chaudes et humides notamment sur les grains et les céréales telles que les arachides (noix, pistache, cacahuètes.....) ; le café le maïs et le blé.....on la retrouver également dans le lait de vache.

Les aflatoxines sont les mycotoxines les plus produites par le genre *Aspergillus*. Elles sont produites par au moins une vingtaine d'espèces appartenant à trois principales sections : *Flavi*, *Nidulantes* et *Ochraceorosei* (Baranyiet *al.*, 2015). Les recherches menées sur les aflatoxines ont établi la prévalence de deux principaux types d'aflatoxines :

- Les aflatoxines du type B (AFB1 et AFB2)
- Les aflatoxines du type G (AFG1 et AFG2)
- Les aflatoxines du type M, non moins importantes que les premières, ont été détectées pour la première fois dans le lait comme métabolites des aflatoxines du type B (Nikiéma, 1993 ; Richard et Lyon., 1986 ; Schmidt et Esser., 1985). Mais le plus important dans les produits alimentaires (Sidhu *et al.* , 2009), et le plus potentiellement cancérigène est l'aflatoxine B1 (AFB1) dont le nom chimique est le suivant :

6Méthoxydifurocoumarone2,3,6 α ,9 α -tétrahydro-4-méthoxy-cyclopenta[c]furo[3',2':4,5]furo[2,3-h][I]benzopyran-1,11-dione (R. Elkhoury, 2016).

I.8.2. Structure

Les aflatoxines forment un groupe de 18 composés structurellement proches (figure n°7) , dont six constituent les formes les plus couramment rencontrées dans les aliments (B1,B2,G1,G2, M1,M 2) (Gautier, 2016) . Les aflatoxines sont caractérisés au niveau moléculaire par des cycles bifurac coumarine-lactone/cyclopentone. Leur structure est un assemblage d'une coumarine et de 03 furannes. Les aflatoxines du type G possèdent un cycle lactone, tandis que celles du type B ont un cyclopentanone. Chaque type d'aflatoxines est subdivisé en deux groupes (1 et 2) ; les aflatoxines du groupe 1, à la différence de celles du groupe 2, sont caractérisées par la présence d'une double liaison en C8,9 du premier anneau furane. Les aflatoxines du type M possèdent un anneau cyclopentanone comme celles du type B, mais sont hydroxylées en C10 (figure n°3) (Coelho, 2017).

Le cycle lactone de l'AFB1 semble être responsable en majorité de sa toxicité (El Assaoui, 2018).

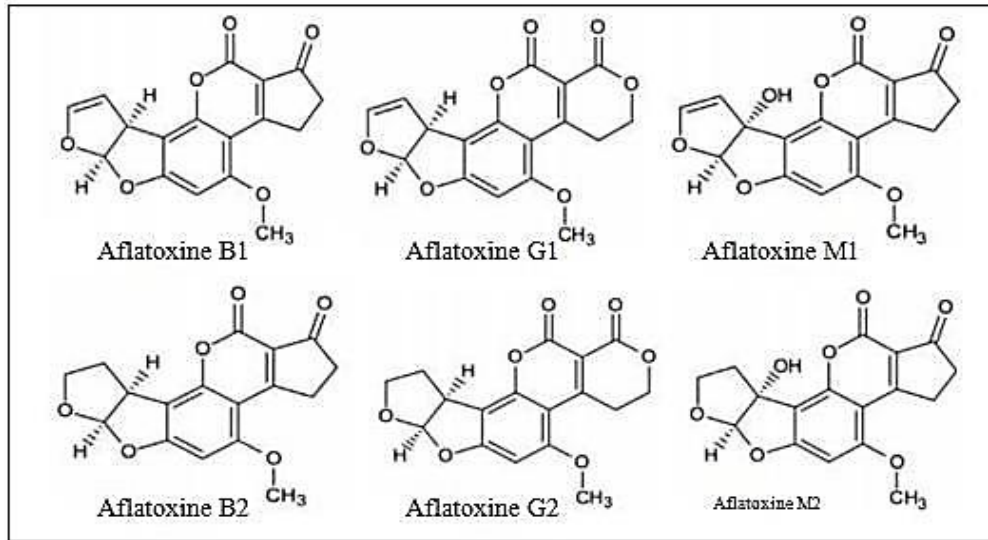


Figure n°03 : Structures chimiques des principales aflatoxines (Campagnollo *et al.*, 2016)

Tableau n°07 : Principales aflatoxines produites par les espèces du genre *Aspergillus* (Bbosa *et al.*, 2013).

Furanocoumarines	Type d'aflatoxine	Espèce aspergillaire
Groupe des difurocoumarocyclopentones	Aflatoxine B1	<i>A.flavus</i> , <i>A.arachidicola</i> , <i>A.bombycis</i> , <i>A.minisclerotigens</i> , <i>A.nominus</i> , <i>A.ocharaceroseseus</i> , <i>A.parasiticus</i> , <i>A.pseudotomarii</i> , <i>A.rambelii</i> , <i>Emericellavenezuelensis</i>
	Aflatoxine B2	<i>A.flavus</i> , <i>A.arachidicola</i> , <i>A.minisclerotigens</i> , <i>A.nominus</i> , <i>A.parasiticus</i>
	Aflatoxine B2a	<i>A.flavus</i>
	Aflatoxine M1	Métabolite de l'AFB1 (produite par <i>A.flavus</i> et <i>A.parasiticus</i>).
	Aflatoxine M2	Métabolite de l'AFB2 dans le lait des animaux nourris avec des aliments contaminés
	Aflatoxine M2a	Métabolite de l'AFM2

	Aflatoxicol	Métabolite de l'AFB1 (produite par <i>A.flavus</i>)
	Aflatoxicol M1	Métabolite de l'AFM1
Groupe des difurocoumarolactones	Aflatoxine G1	<i>A.flavus</i> , <i>A.arachidicola</i> , , <i>A.minisclerotigens</i> , <i>A.nominus</i> , <i>A.parasiticus</i>
	Aflatoxine G2	<i>A.flavus</i> , <i>A.arachidicola</i> , <i>A.minisclerotigens</i> , <i>A.nominus</i> , <i>A.parasiticus</i>
	Aflatoxine G2a	Métabolite de l'AFG2
	Aflatoxine GM1	<i>A.flavus</i>
	Aflatoxine GM2	Métabolite de l'AFG2
	Aflatoxine B3	Non définie
	Parasiticol (P)	<i>A.flavus</i>
	Aflatrem	<i>A.flavus</i> , <i>A.minisclerotigens</i>
	Aspertoxin	<i>A.flavus</i>
	Aflatoxine Q1	Métabolite de l'AFB1

I.8.3. Propriétés physico- chimiques

Les aflatoxines sont des composés organiques de nature non protéique de faible poids moléculaire (312 à 330 g/mol), se présentent sous forme de cristaux à point de fusion élevé (240°C – 289°C) (AFSSA, 2009). Elles sont vulnérables à la lumière UV mais très stables à des températures élevées (supérieures à 100°C) (Eivazzadeh-Keihan et al., 2017 ; Baranyi et al., 2015). L'AFG2 est dénaturée à partir de 237°C, l'AFG1 se décompose entre 244-246 °C, tandis que l'AFB1 et l'AFB2 s'avèrent être encore plus résistantes, se décomposant respectivement à partir de 268 et 286°C (IARC, 2002). Cette température peut atteindre 299°C pour les structures les plus thermostables telles que les AFM. Cette propriété les rend particulièrement résistantes aux traitements thermiques comme la congélation, la pasteurisation ou encore la stérilisation (Gautier, 2016). Les aflatoxines sont relativement instables par exposition à la lumière surtout les UV et à l'air en présence d'oxygène avec des pH extrêmes (pH inférieur à 3 ou pH supérieure à 10). tout provoque l'oxydation du cycle

lactone de l'aflatoxine devient sensibles à une hydrolyse alcaline, mais en cas de neutralisation, il peut se reformer(**Binder et Krska , 2012**). Les aflatoxines sont aussi dégradées par l'ammoniac (NH₄OH) et l'hypochlorite de sodium (NaOCl). Lors de cette dernière réaction l'AFB₁, il se forme le 2,3-dichloro-aflatoxine B₁ qui est directement génotoxique (**R. Elkhouri, 2016**).

Les aflatoxines, en solution dans un solvant fortement polaire. Leur stabilité est très variée : dans l'eau elles sont généralement peu solubles (10 à 30 µg/ml) (**Gautier, 2016**). Elles sont très solubles dans les solvants modérément polaires comme le chloroforme, le méthanol, l'éthanol, l'acétone, l'acétonitrile (**Mahine, 2017**) et surtout dans le diméthylsulfoxyde « DMSO » (**Krivobok, 1983**). Elles présentent une instabilité totale dans les solvants non polaires l'hexane, l'éther de pétrole et l'éther éthylique (**Mahine, 2017**).

Les noms de ces AFS (B₁, B₂, G₁, G₂) sont basés sur leur fluorescence sous la lumière UV (bleu « blue » pour B₁ et B₂ » ou vert « green » pour G₁ et G₂) et sur la mobilité chromatographique relative à leur séparation (Tableau 08). Par contre les AFS (M₁ et M₂) ont tenu leur appellation du fait de leur détection dans le lait « milk » des vaches laitières nourries par une alimentation contaminée (**Loic, 2008**). Les aflatoxines ne contenant pas d'azote dans leurs molécules, et de ce fait ont un pouvoir antigénique très faible (**Redouane-Salah, 2016**).

Tableau n°08 : Le Poids moléculaire (PM), facteur de rétention (RF) calculé sur gel de silice 60 (0,25 mm), points de fusion et spectre d'absorption sous UV des aflatoxines (**Krivobok, 1983**).

Aflatoxines						
Propriété	Type	PM	RF	Point de fusion °C	Spectre	
					Max	E(nm)
-Cristaux fluorescents. -Ces couleurs de fluorescence sont à l'origine du	B1	312	0,56	268-269 (décomposition)	223	25600
				(cristallisation dans le chloroforme).	265	13400
	B2	314	0,53	287-289 (décomposition)	222	17000
				(cristallisation dans un mélange de chloroforme et de pentane).	265	11700
				363	23400	

nom des mycotoxines.	G1	328	0,48		243	11500
				244-246 (décomposition)	257	9900
				(cristallisation dans un mélange	264	10000
				de chloroforme et de	362	16100
				méthanol).		
	G2	330	0,46		214	28100
					265	11600
				237-239 (décomposition)	363	21000
				(cristallisation dans une		
	M1	328	0,40	solution d'acétate d'éthyle).	226	23100
					265	11600
				299 (décomposition)	357	19000
				(cristallisation dans une		
	M2	330	-	solution de méthanol).	264	12100
				357	22900	
			293			
P1	298	-		267	11200	
				342	14900	
			>320	362	15400	
Q1	328	-		267	11450	
				366	17500	
			-			
Aflato xicol	314	-		261	10800	
				325	14100	
			230-234			
B2a	330	-		360	20400	
G2a	346	-	240	362	18000	
			190			

I.8.4. Méthodes d'analyse

Dans les produits végétaux, la qualité de l'échantillonnage est primordiale compte tenu de la contamination habituellement très hétérogène. Pour les aliments pour animaux, la méthode d'échantillonnage AOAC 977.16 fut la première élaborée à cet effet. Deux autres normes s'y rattachent : ISO 6497 et prNF EN ISO 6498. Le règlement (CE) n° 401/2006 de la commission du 23 février 2006 fixe les modes de prélèvement d'échantillons et des méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en mycotoxines des denrées alimentaires.

Les méthodes validées de dosage des aflatoxines totales (AFB1+ B2+G1+G2) ou AFB1 seule sont généralement basées sur des systèmes chromatographiques de purification et de séparation (telle que la chromatographie liquide haute performance, CLHP). Elles s'appliquent aux matrices pour les quelles une réglementation existe. Citons parmi elles celles pour les grains (AOAC990.33) , pour l'alimentation du bétail (ISO 14718 :1998, et AOAC 2003.02) et de manière plus ciblée pour le maïs, les arachides brutes et le beurre d'arachide (AOAC 991.31 ou norme NF EN 12955), pour les cacahuètes, les pistaches, les figues et le paprika en poudre (AOAC 999.07 ou norme NF EN 14123), ou pour les aliments pour bébés (AOAC , 2000).

Des méthodes analytiques de même type ont été validées pour le dosage spécifique de l'AFM1 dans le lait liquide (IDF 111A :1990 et aoac 2000.08) et dans le lait en poudre (IDF 171 :1995/ISO 14501 et IDF 190 :2003/ISO 14674) (Gallotti *et al.*,2006).

I.8.5. Contamination des aliments

La présence des aflatoxines dans l'alimentation humaine et animale est le résultat d'une contamination par des espèces fongiques aflatoxinogènes. Le taux et le degré de contamination dépendent étroitement de la température, de l'humidité et des conditions de stockage. Les aflatoxines sont rencontrées sur les cultures dans les champs avant la récolte dans les pays chauds et humides. La contamination après la récolte et /ou pendant le stockage est également possible, si le séchage des cultures est retardé. Elles contaminent les arachides, les pistaches, les amandes (Klich, 2007), mais aussi les grains de coton et de tournesol (Brochard et le Bacle, 2009), ainsi que certaines céréales (maïs, blé, sorgho) et leurs produits dérivés. L'AFB1 peut également être retrouvée dans les épices (El Magubi *et al.*, 2013; Brochard et le Bacle, 2009), les fruits secs (Juan *et al.* , 2008).

La présence des aflatoxines peut être détectée dans les produits et aliments d'origine animale comme la viande, les œufs, la volaille et le lait (Neme et Mohammed, 2017). Leur

présence a déjà été constatée dans les produit animaux seulement si les quantités initiales ingérées sont suffisamment importantes (Bailly et Guerre, 2009; Herzallah, 2009; Hymeryet *al.*, 2014). De plus, des quantités d’AFM1 peuvent aussi être transférées aux nourrisson par le lait des mères consommant des aliments contaminés par l’AFB1 (Nematietal., 2010; Elzupiret *al.*, 2012).

Les conditions les plus favorables pour le développement d’*A.flavus* et la production d’aflatoxines dépendent essentiellement la nature de la flore fongique et ses particularités physiologiques, la nature et la composition du substrat, les conditions climatiques et environnementales (Bhat *et al.*, 2010).

I.8.6. Limites maximales pour les mycotoxines dans les aliments dans certains pays européens et les USA

Les limites maximales pour les mycotoxines dans les aliments se résument dans le tableau si dessous (Creppy, 1995).

Tableau°09 : limites maximales pour les mycotoxines dans les aliments dans certains pays européens et les USA.

Mycotoxine	Pays	LM(µg/kg ou µg/l)	Aliments
AFB1	Finlande	2	Tous
	Allemagne	2	Tous
	Pays-Bas	5	Tous
	Belgique	5	Tous
	Portugal	25	Arachide
		5	Aliments, pour enfants
		20	Autres
			Tous
	Autriche	1	Céréales, noix
		2	Tous
	Suisse	1	Maïs, céréales
		2	Tous
			Tous
	Espagne	5	Tous
	Luxembourg	5	Tous
Irlande	5	Tous	

	Danemark	5	Tous
	grèce	5	
AF totales : AFB1, AFB2, AFG1 et AFG2	Suède	5	Tous
	Norvège	5	Arachides, noix
	Finlande	5	Tous
	Allemagne	4	Tous
		0,05	Enzymes, et formulations
	G. Bretagne	4	Noix, fruits secs
	France	10	Tous
	Italie	50	Arachides
	Autriche	5 (B2+G1+G2) 0,02 (M1+B1+B2+G1+G2)	Tous Aliments pour enfants
	Suisse	5 (B2+G1+G2)	Tous
		0,01	Nourritures de bébés
	USA	20	Tous
	Belgique	5	Arachides
Bonie	1(B1+G1)	Céréales	
	5	Fèves, haricots	
AFM1		0,05	Dérivés laitiers, liquides
		0,05	Lait
	Suède	0,05	Lait
	Autriche	0,05	Lait
	Allemagne	0,05	Lait
	Pays-Bas	0,02	Beurre
		0,02	Fromages
		0,5	
	Russie	0,02	Aliments pour enfants
	suisse	0,05	Lait et dérivés
	0,25	Fromage	

I.8.7.Toxicité

I.8.7.1. Mécanisme d'action toxique

Les effets pathogènes les plus marqués des mycotoxines se situent le plus souvent spécifiquement au niveau de certains organes comme le foie (aflatoxine), les reins (citrines)

le cœur (acide penicillique) et le système nerveux (acide aspergillique, penitrem A) (**Huwig A., 2001**).

En ce qui concerne l'aflatoxine B1 il est activé dans le foie par le système oxydasique microsomal (**Règlement, 2003**). En aflatoxine B1 dihydradiol qui est conjuguée et excrétée dans la bile, l'urine et le lait.

Des études in vivo et in vitro ont la liaison covalente qui s'établit entre un métabolite intermédiaire de l'aflatoxine, la 2-3 epoxyde aflatoxine B1 avec l'ADN, liaison à l'origine de mutations déterminantes dans l'initiation d'un cancer (**Règlement, 2002**).

Cette liaison à l'ADN bloque également la duplication et entraîne secondairement une perturbation de la traduction et de la transcription du génome donc de la synthèse protéique ultime étape de la chaîne.

Non métabolisée, l'aflatoxine concurrence les hormones stéroïdes génitales auprès des sites de liaison avec les polyribosomes (**Soheir et Mona., 2004**)

L'induction enzymatique, la synthèse des facteurs II et VII de la coagulation sanguine, la transformation du glucose par l'intermédiaire du glucose 6 phosphate, la synthèse des acides gras et des phospholipides sont perturbées ; la disparition du rétrocontrôle de la synthèse du cholestérol est également observée (**Règlement, 2001**).

I.8.7.2. Effets toxiques

L'homme s'expose aux aflatoxines par voie orale en ingérant des aliments contaminés. Cette contamination peut être directe par la consommation des denrées alimentaires végétales (voie primaire), ou indirecte par le biais de produits d'origine animale (voie secondaire) (**Neme et Mohammed, 2017**). La toxicité des aflatoxines se manifeste sous la forme de toxicose appelée « aflatoxicoses ». Selon la concentration et la durée de l'exposition, les aflatoxines peuvent être à la fois à l'origine des intoxications aiguës et chroniques. L'exposition à long terme même à des niveaux extrêmement faibles est dangereuse pour la santé (**Prandini et al., 2009**).

En 2002, le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) de l'OMS classe l'aflatoxine dans le groupe I, car il existe des preuves suffisantes de la cancérogénicité de ses molécules chez l'homme et l'animale, l'AFM1 dans le groupe II B et l'AFG1 dans le groupe III (**AFSSA, 2009**). Quant à l'AFG2, les données actuellement disponibles sont insuffisantes pour la classer dans cette catégorie. La plus toxique des quatre aflatoxines naturelles est l'AFB1, viennent ensuite par ordre décroissant de toxicité l'AFG1 puis les AFG2 et AFB2 (**Meissonnier, 2005**).

L'AFB1 possède des propriétés cancérigènes, hépatotoxique, tératogène et immunotoxiques. L'AFB1 est le composé présentant le potentiel toxique le plus important. Elle est la seule mycotoxine ayant un rôle avéré dans l'apparition de certains cancers du foie (**Wogan, 2000**).

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

Dans le cas d'une intoxication chronique, le foie est la cible privilégiée des aflatoxines. Elle est fréquemment observée chez les animaux d'élevage (volailles, porcs, ruminants.....). La toxicité chronique se manifeste par une diminution de la prise alimentaire, une asthénie voire un coma dans les cas très sévères (**Brochard et Le Bacle, 2009**). De même que pour une intoxication aigue, le foie est pâle et présente des lésions de fibrose et parfois de cirrhose.

Outre son rôle dans l'apparition d'hépatocarcinomes, l'exposition chronique aux aflatoxines semble être à l'origine de troubles de la reproduction et de malformations fœtales (**CDC, 2004**). Des études sur des souris ont mis en évidence des anomalies du nombre et de la morphologie des spermatozoïdes, ainsi que des malformations squelettiques et cardiaques chez les nouveaux nés. D'autre part, les effets immunosuppresseurs de l'AFB1 rendent les espèces animales sensibles aux infections opportunistes, par diminution de la réponse inflammatoire de l'organisme (**Brochard et Le Bacle, 2009**).

Les nourrissons peuvent également être exposés aux aflatoxines par le biais de la mère. Une exposition des jeunes enfants à des concentrations supérieures à la limite quotidienne maximale admissible provoque divers types de cancer et des décès en fonction du type, de la dose et de la période d'exposition (**AtongbiikA chaglinkame et al., 2017**). Les aflatoxines sont capables de traverser la barrière placentaire humaine. Les expositions

répétées aux aflatoxines in utero et durant l'enfance pourraient prédisposer un individu au cancer du foie (**Partanen et al., 2010; Ramos et al., 1998**).

I.9. Réglementation

En raison de la haute toxicité des aflatoxines, de nombreux pays ont établi des réglementations strictes afin de contrôler leur présence dans les aliments et d'interdire le commerce des produits contaminés. Un sondage établi par la FAO en 2003 a révélé qu'une centaine de pays, représentant environ 87% de la population mondiale, avaient instauré une réglementation pour les mycotoxines dans les aliments destinée à la consommation humaine et animale (**Smith et al., 2016**).

La réglementation varie d'un pays à un autre et dépend habituellement du niveau de développement économique d'un pays, de l'étendue de la consommation et de la sensibilité à la contamination des cultures à réglementer (**Udomkunet al., 2017**).

I.9.1. À l'échelle nationale

En Algérie, l'arrêté correspondant au 11 octobre 2006 rendant obligatoire la méthode de dosage de l'aflatoxine B1 et la somme des aflatoxines B1, B2, G1, et G2 dans les céréales, les fruits à coque et les produits dérivés (**Journal officiel N°06/2007 du 11 octobre 2006**).

Tableau n°10 : Limites réglementaires algériennes des AFs dans les produits d'alimentations humaine et animale (**FAO, 2003**).

Produit	Somme	Les limites	Méthodes	Méthode
Mycotoxines		(µg/kg) d'échantillonnage	d'analyse	
Produits d'alimentation humaine				
Arachide,	Aflatoxine B1	10	Non officielle	officielle
Fruits à coque,	AFs : B1,B2,G1	20		DZ ₁
Céréales	G2			
Produits d'alimentation animale				
Aliments pour	Aflatoxine B1	20	Non officielle	
officielle				
Bétail				
DZ ₂				

Les données ont été fournies par le ministère du commerce algérien

DZ₁ : AOAC (1990). 986.22. Aflatoxins in peanuts and peanuts products – CB method Food and Drug laboratories – Canada –Best food method.

DZ₁ : NF-VF (1980).Animal feed – aflatoxins measurement B1, June 1980 : 18-200.

I.9.2. Al'échelle internationale

Dans le cadre du règlement 1881/2006/CE (**abrogeant le règlement 466/2001/CE et ses modifications**) portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires et de la directive 2002/32 (et ses modifications) sur les substances indésirables dans les aliments pour animaux, des teneurs maximales ont été fixées pour les aflatoxines (**Gallotti et al.,2006**).

Tableau n°11 : Teneursmaximales en aflatoxines exprimées en µg/kg (**Fao, 2003**).

Alimentation	Toxine	Matrice	Teneur maximale en µg/kg
Humaine	Aflatoxine B1	Arachides (cacahuètes)+ autres graines+fruits secs	de 2,5 ou 8 selon le produit et son stade de transformation
		Céréales	2ou 5 selon le produit et son stade de transformation
		Certaines épices	5
		Préparations à base de céréales et aliments pour nourrissons et enfants en bas âge	0,1
	Aflatoxines B1+B2+G1+G2	Arachides (cacahuètes)+ autres graines+fruits secs	de 2,5 ou 8 selon le produit et son stade de transformation
		Céréales	de 2,5 ou 8 selon le produit et son stade de transformation
		Certaines épices	10
	Aflatoxine M1	Lait	0,05
		Préparation pour nourrissons et enfants en bas âge	0,025

Animale	Aflatoxine B1	Matières premières des aliments pour animaux	20
		Aliments complets/complémentaires	De 5 à 20 selon les espèces animales

II. Les moisissures

II.1. Généralités

Le terme moisissure est utilisé dans le langage courant pour désigner les champignons microscopique (Arnaud, 2014). Les champignons représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur terre et jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystèmes (Miller, 2002). Au sein du règne des champignons renfermant suivant les auteurs 65000 à 100 000 espèces différentes, les moisissures constituent un ensemble hétérogène d'environ 20 000 espèces (Berthier et valla, 2009 ; Azzoune, 2010).

Les champignons sont des organismes uni- ou pluri- cellulaires (Chabasse et al., 2002), filamenteux, ubiquitaires (Pitt et al., 2000), hétérotrophes et immobiles, dont la structure cellulaire est celle d'une cellule eucaryote classique (Nicklinet al., 2000). Ces microorganismes appartiennent en majorité à trois classes : zygomycètes, ascomycètes, basidiomycètes et deutéromycètes (Berthier et Valla, 2009 ; Azzoune, 2010). Les moisissures possèdent un appareil végétatif constitué par un thalle, filamenteux, le mycélium, dont les filaments s'appellent des hyphes (Nicklinet al., 2000). Le mycélium peut être différencier des organes forts variés selon les groupes, spécialisés dans la multiplication et la dissémination, auxquels on accorde la dénomination globale de spores (Bourgeois, 1989).

Les champignons sont aérobies, en générale, acidophiles (pH compris entre 3 et 7) (Nicklinet al., 2000) et mésophiles (température optimale 20-30°C) (Botton et al., 1990).

Cependant, certaines espèces sont psychrophiles, se développant à basse température ($T^{\circ} < 15^{\circ}\text{C}$ ou même parfois $< 0^{\circ}\text{C}$, comme *Cladosporiumherbarium*, *Thamnidium elegans*). Elles ont en générale, un faible besoin en eau par rapport à d'autres microorganismes ($a_w = 0,65$) (Boiron, 1996). Elles sont souvent dotées de propriétés lytiques importantes (cellulolytique, pectinolytique, amylolytique, protéolytique, lipolytique, etc.....).

Les champignons établissent avec les espèces animales et végétales différents types d'interactions comme le saprobie, le parasitisme, le commensalisme et la symbiose. Ces microorganismes produisent une grande variété de métabolites secondaires, certains d'entre eux sont très utiles à l'homme et présentent un intérêt considérable dans les différents domaines (agricultures, biotechnologie, environnement, santé, etc)..ainsi certains de ces microorganismes sont utilisés dans le processus biotechnologiques pour la synthèse des différents acides, comme l'acide citrique gluconique ainsi que pour la production d'enzymes (protéases et pectinases) (Perry et al., 2004).

D'autres sont utilisés dans l'industrie agroalimentaire, pour l'affinage des fromages et l'amélioration des qualités organoleptiques de certains produits alimentaires (saucisse). Dans le domaine pharmaceutique, les moisissures sont utilisées surtout pour la production d'antibiotiques (pénicillines, céphalosporines etc) (**Botton, 1990 ; Kiffer et Morelet, 1997 ; Perry et al., 2004**).

Environ 22% des antibiotiques identifiés et 40% des enzymes produites industriellement sont élaborés par les espèces fongique (**Strohl, 1997**). A côté de ces intérêts bénéfiques, les moisissures constituent un agent de détérioration très important. Leur développement indésirable sur les aliments peut entrainer de nombreux problème tel que la modification de l'aspect des produits alimentaires, altération de qualités organoleptiques, réduction qualitative et quantitative de la valeur alimentaire, une baisse de rendement des récoltes et des pertes économiques dues au rejet des produits contaminés (**Pitt et al., 2000**). Cependant l'impact le plus négatif de l'altération des denrées alimentaires est lié à la synthèse de substances toxiques : les mycotoxines. (**Bhatnagar et al., 2002**). Ils peuvent infecter le corp humain ou animale provoquant des maladies appelées mycoses suite à la consommation des aliments contaminés (peuvent être à l'origine d'intoxication alimentaire ou de mycotoxicoses) (**Lahouar, 2016**).

II.2. Taxonomie et Classification

Les moisissures ne correspondent pas à un groupe systématique homogène, mais se situent en diverses familles de champignons microscopiques. Leur classification est basée sur des caractères morphologiques (structure du mycélium) et le mode de reproduction (**Davet, 1996**). Un micromycète peut parfois se présenter sous différentes formes : une forme sexuée ou téléomorphe et une forme asexuée ou anamorphe. Lorsque plusieurs aspects coexistent pour la forme asexuée, on parle de synanamorphes. Lorsque l'espèce fongique existe dans la même culture sous forme sexuée et asexuée, on parle d'holomorphe. On différencie quatre divisions selon les modalités de reproduction sexuée : les Mastigomycotina, les Zygomycotina, les Ascomycotina et les Basidiomycotina (**Bourgeois, 1989**). En outre, lorsque la reproduction sexuée n'est pas connue, la division est appelée Deuteromycotina ou *Fungi imperfecti* (**Chabasse et al., 2002**).

II.3. Ecologie des champignons

Dans la nature, les champignons se développent le plus souvent comme des microorganismes saprophytes. Ils participent à la dégradation et au recyclage de la matière

organique et minérale. Ces caractéristiques confèrent aux champignons, la possibilité de coloniser et d'explorer de nouveaux habitats et ainsi, d'occuper tous les environnements possibles. Terrestres et aquatiques, régions tropicales et polaires (**Dix et Webster, 1995**). Quelques espèces sont adaptées à la sécheresse, d'autres vivent au contraire dans l'eau (eaux douces, océans, ou eaux usées). Certaines supportent bien des pressions osmotiques élevées (dans les milieux très salés, ou très sucrés, par exemple) et arrivent à contaminer les salaisons, le miel, ou les confitures. Des champignons aimant la chaleur se trouvent dans les composts (à 70 – 75°C). Mais on trouve aussi des champignons dans les toundras arctiques ; en haute montagne, l'hygrophore printanier se récolte à la fonte des neiges (2°C) ; et certains champignons peuvent encore pousser dans les chambres réfrigérées (*Sporotrichumcarnis*) peut altérer des viandes pourtant conservées à – 5°C (**Locquin, 1984**).

II.4. Identification

L'identification des espèces fongiques susceptibles de coloniser les aliments est basée sur la comparaison des critères d'ordre morphologique (macroscopique et microscopique), biochimiques, ou génétiques après leur culture sur différents milieux appropriés en fonction de la finesse de l'identification recherchée (**Guarro et al., 1999**). Les méthodes moléculaires, basées sur les caractéristiques des séquences des acides nucléiques (ADN) est souvent utilisée (**Arnaud, 2014**). Toutefois, la complexité du règne fongique fait qu'à l'heure actuelle, ces outils ne peuvent pas encore remplacer complètement l'examen morphologique, qui reste la base de l'identification (**Chabasse et al., 2002**).

II.4.1. Identification morphologique

L'approche classique d'identification des champignons filamenteux est basée sur les critères de classification observables (**Arnaud, 2014**) macroscopiquement (aspect des colonies, de leur couleur) et microscopiquement (aspect des mycéliums, des spores, des phialides, des conidiophores....) (**Cahagnier et al., 1998**).

✓ Critère d'identification macroscopique

La vitesse de croissance peut être rapide comme chez les *Aspergillus* ou lente comme chez les *Penicillium*. Elle varie aussi selon la richesse de l'inoculum. Elle est d'autant plus rapide que l'inoculum est important. L'aspect des colonies est également un critère d'orientation. Les champignons luviriformes donnent des colonies lisses, glabres, humides, d'aspect brillant ou mat, parfois rupeuses.

Par contre, les champignons filamenteux ont une texture différente : duveteuse, cotonneuse, veloutée, poudreuse ou granuleuse. La couleur de la colonie est également un élément pertinent d'orientation ainsi que la présence d'un pigment dans la gélose, bien que ces derniers critères sont soumis aux conditions de culture. Les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus*, *Penicillium*) ou diffuser dans le milieu de culture (*Fusarium*). La taille des colonies peut être très variable en fonction des genres fongiques : petites colonies (*Cladosporium*), ou colonies étendues, envahissantes (*Mucor*, *Rhizopus*) (Chabasse *et al.*, 2002).

✓ **Critère d'identification microscopique**

L'examen microscopique d'une colonie fongique est réalisé après prélèvement d'un ou plusieurs fragments de la culture et étalement de la préparation entre lame et lamelle. Généralement, l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence les éléments importants du diagnostic (Chabasse *et al.*, 2002).

Lors de cette analyse, plusieurs structures sont observées comme l'appareil végétatif, les organes de fructification et les spores.

- Le thalle végétatif : tous les champignons possèdent un appareil végétatif constitué de filaments (hyphes), l'ensemble est appelé thalle ou mycélium. On distingue :
- Le thalle septe ou cloisonné : ces filaments ont un diamètre étroit et régulier de 2 à 5µm, leurs bords sont parallèles.
- Le thalle siphonné ou coenocytique : filament peu ou pas ramifiés, de diamètre large et irrégulier de 5 à 15µm et non cloisonnés.
- La paroi : est pigmentée (mélanisée) ou non (hyaline) (Chabasse *et al.*, 2002).
- Les spores : peuvent être endogènes (les endospores), ou exogènes (conidiospores ou conidies). L'examen des spores est une étape primordiale de l'identification des champignons (Campbell *et al.*, 1996). Selon leur aspect, on distingue :
- Amérospore : spores unicellulaires de petite taille.
- Didymospores : spores bicellulaires.
- Phragmospores : spores pluricellulaires à cloisons transversales.
- Dictyospores : spores pluricellulaires à cloisons transversales et longitudinales.
- Scolécospores : spores étroites, effilées, souvent incurvées et cloisonnées transversalement.

L'identification microscopique nécessite l'examen des organes de fructification ; présence ou non d'organes protecteurs des conidies, modes de formation des conidies (issues

directement du thalle, solitaires (aleuriospores) ou en chaînes (arthrospores), ou produites par bourgeonnement et regroupées soit en grappes, en masses, en tête (balles), en chaînes basipètes, en chaînes acropètes (**Chabasse et al., 2002**).

Cependant, ces critères ne suffisent pas à eux seuls pour identifier d'une manière précise certaines espèces de champignons toxigènes. C'est pourquoi, l'identification des principaux genres et espèces fongiques repose actuellement sur une approche de taxonomie polyphasique qui consiste à étudier non seulement les caractères morphologiques mais aussi les caractères chimiques, et moléculaires.

II.4.2. Identification biochimique

La détermination des contenu en métabolites secondaires notamment les types de mycotoxines produites font partie des critères étudiés pour l'identification des champignons toxigènes (**Samson et al., 2006 ; Frisvad et Samson, 2004 ; Vargaet al., 2007**). Dans les derniers travaux réalisés par **Pildainnet et al., 2008** et publiés dans International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 12 métabolites ont été étudiés pour distinguer entre différentes espèces du genre *Aspergillus* section *Flavi*. Ces métabolites sont l'acide Kojique ; AFB1 ; AFG1 ; CPA ; acide aspergillique ; asperfurane ; parasiticolides ; chrysoquine ; aflavarines ; paspalinine et paspaline ; aflatrems et aflavinines et nominines.

II.4.3. Identification moléculaire

La méthode traditionnelle de l'identification des moisissures est fondée sur les caractéristiques morphologiques. Cette identification nécessite une culture, parfois 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 changements constants dans la taxonomie peuvent conduire à une mauvaise identification et une fausse évaluation de son potentiel toxigène. Par conséquent, de nombreuses études visant à développer des méthodes d'identification basées sur la biologie moléculaire, essentiellement sur l'amplification par PCR (polymérase chaineréaction), ont été réalisées (**Niessen, 2007**).

Les méthodes moléculaires sont basées sur l'amplification par PCR de certaines régions spécifiques comme le gène codant pour la région ITS, la région ITS est formée de ITS1 de l'ADNr 5,8 et de l'ITS2 encadrée par les ARNm 18S et 28S (**Strachan et al., 1999**).

La démonstration de l'intérêt des séquences des gènes codant les ARN ribosomique (18S, 28S région variable V3 D1 :D2) a permis d'affiner la distinction des groupes taxonomiques et des espèces chez les champignons. Les régions inter géniques non transcrites de ces gènes (ITS1 et ITS2) se sont également avérées utiles pour la distinction des taxa. Ces deux types de marqueurs seuls ; ARNr28S ou ITS1/ITS2, permettent une très bonne identification des genres, à partir des acides nucléiques extraits de n'importe quel mycélium, après amplification avec des amorces universelles chez les champignons inférieurs et supérieurs, et comparaison à des séquences de référence. Les bases de données de séquences de références sont extrêmement riches, puisqu'à chaque description de nouvelle espèce les données de séquence des divers marqueurs sont générées. Néanmoins, toutes les séquences ARNr28S ou ITS1/ITS2 ne sont pas connues simultanément pour toutes les espèces fongiques. La région 28S D1 :D2 fait référence pour la distinction de nombreuses espèces de champignons ascomycètes ou basidiomycètes. Les régions intergéniques ITS1-ITS2 combinées, ont été proposées comme « code barre de la vie » pour les espèces animales, les plantes et les champignons. En effet, de nombreuses limitations ont été documentées pour l'identification des espèces fongiques, certaines espèces différentes pouvant présenter 100% d'homologies avec l'un ou l'autre de ces marqueurs, voire les deux. Ainsi, dans des genres importants pour les industries pharmaceutiques, comme *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, etc...la distinction précise des espèces courantes n'est pas possible avec les seules séquences ARNr28S, ou ITS1/ITS2 seules ou combinées. La combinaison des deux régions ITS s'est avérée plus performante que l'utilisation de l'une ou de l'autre séparées (Arnaud, 2014).

II.5. Principaux moisissures mycotoxinogènes

II.5.1. Généralité

Les champignons filamenteux peuvent avoir des effets bénéfiques ou néfastes au sein de l'environnement humain. Ces micro-organismes sont impliqués dans différents domaines tels que l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique, cosmétique et dans le secteur médical. Néanmoins, ils représentent un risque dans le domaine de l'industrie agroalimentaire par contamination des aliments. En effet, les moisissures peuvent être à l'origine d'importantes dégradations des propriétés physicochimiques entraînant une altération des produits alimentaires. La prolifération des moisissures pathogènes peut entraîner une production de métabolites secondaires comme les mycotoxines qui sont responsables d'un taux élevé de

toxicité. La présence de ces métabolites représente un risque majeur pour la santé humaine (**Rodriguez et al., 2015**).

Cinq genres de champignons, dits toxigènes, ont la capacité de produire des mycotoxines, il s'agit des genres : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* et *Claviceps* (**Azzoune, 2010 ; Redoune-Salah, 2016 ; Haque et al., 2020 ; Miller et Trenholm, 1994**). Ces dernières sont classées en deux groupes majeurs : (i) les contaminants du champ (principalement *Fusarium* et *Alternaria*) pouvant infecter les plantes vivantes et (ii) ceux du stockage (*Penicillium* et *Aspergillus*) capable de se développer après la récolte, au cours du séchage, du stockage, du transport et de la distribution (**Atoui, 2006 ; R. ElKhoury, 2016**).

Les mycotoxines peuvent être produites à tous les stades de la chaîne alimentaire depuis le champ jusqu'au produit fini (**Azzoune, 2010**) et les conditions prédisposant à la production de toxines sont des facteurs intrinsèques, extrinsèques et biologiques (**Guezlane-Tebibel et al., 2016**). Les mauvaises conditions de stockage des récoltes favorisent également le développement des champignons et la formation de mycotoxines (**Agriopoulou et al., 2020**).

Les principaux genres producteurs des aflatoxines sont *Aspergillus* et *Penicillium*. Ils représentent les contaminants les plus fréquents des aliments. On les retrouve principalement dans les céréales, les arachides et dans de nombreux autres produits d'origine végétale et animale (**Delage et al., 2003 ; Lopez De Cerain et al., 2002 ; Filali et al., 2001 ; Otteneder et Majerus, 2000**).

II.5.2. Le genre *Aspergillus*

II.5.2.1. Définition

Aspergillus signifie « aspersoir » due à la forme de ses têtes aspergillaires (**Galinas, 1995**). Les *Aspergillus* sont des contaminants très communs, très répandus dans la nature et ont une répartition géographique très large, mais ils sont plus souvent associés aux régions à climats chaudes (**Castegnaro et Pfohl-Leskowicz, 2002**). Il appartient 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**).

La plupart des *Aspergillus* sont des saprophytes, capables de se développer dans le sol, les détruits, dans les composts et sur les végétaux malades. Ils contribuent à la biodégradation et le recyclage des matières organiques (Scheidegger et Payne, 2003). De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont présentes dans l'environnement humain, notamment dans la poussière et l'air (Morin, 1994). *Aspergillus* colonise les végétaux déjà abîmés par des blessures, des piqûres d'insectes ou des attaques d'autres champignons, mais ils sont aussi présent sur les surfaces des graines, dans les mauvaises conditions de stockage (Scheidegger et Payne, 2003), ces champignons peuvent évoluer et devenir des parasites (Champion, 1997).

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 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 : *Usti*, *Flavi*, *Nigri*, *Circumdati*, *Clavati* et *fumigati* (Balajee *et al.*, 2006).

II.5.2.2. Caractères morphologiques d'identification du genre *Aspergillus*

Les champignons ont une forme caractéristique et des couleurs vives qui les rendent parfois aisément identifiables. L'identification morphologique des espèces appartenant au genre *Aspergillus* est basée sur l'observation des caractères macroscopiques et microscopiques.

II.5.2.2.1. Description macroscopique

Selon Raper et Fennell (1965), l'identification du genre *Aspergillus* est basée sur les critères suivants : Aspect de la colonie, Texture de la colonie, Production des sclérotés, Vitesse de croissance.

Aspect de la colonie : la couleur de la partie aérienne est le premier critère de base. Les *Aspergillus* présentent une croissance rapide sur les milieux de culture classiques (gélose au malt, Sabouraud) additionnés d'antibiotiques. Après 48H d'incubation, on observe des colonies plates, formées de courts filaments aériens, blanc ; après 96H d'incubation, les colonies vont prendre leur teinte caractéristique, brune, verte, jaune ou noire selon les espèces. La majorité des *Aspergillus* poussent à 22-30°C ; les espèces thermotolérant (*A.fumigatus*) se développent à 37-40°C est parfois jusqu'à 57°C (**Badillet et al., 1987 ; Morin, 1994**).

- La couleur de colonies permet une orientation rapide dans l'identification d'espèce : gris-vert pour *Aspergillus* section *Fumigati*, vert-jaune pour *Aspergillus* section *Flavi*, brun cannelle pour *Aspergillus* section *Terrei*, jaune à ocre pour *Aspergillus* section *Circumdati*, noir pour *Aspergillus* section *Nigri* et blanche pour *Aspergillus* section *Candidi*. (**Chermette et Bussieras, 1993**).
- Texture de la colonie : peut être foconneuse, veloutée, etc. Les *Aspergillus* forment des colonies souvent poudreuses ou granuleuse. Le revers de la colonie est incolore au jaune, mais il peut brunir ou rougir avec l'âge (**Chermette et Bussieras, 1993**).
- Production des sclérotés : certaines espèces d'*Aspergillus* ont la capacité de former des amas mycéliens compacts, souvent durs, globuleux, ellipsoïdaux ou allongés, appelés sclérotés, qui aident le champignon à survivre dans des conditions hostiles (**Wicklów et Shotwell, 1983**).
- Vitesse de croissance : une colonie d'*Aspergillus* se développe en général entre 2 à 7 jours (**Raper et Fennell, 1965**).

II.5.2.2.2. Description microscopique

Les *Aspergillus* sont caractérisés par un appareil végétatif (Thalle), cet appareil est formé de filaments mycélium hyalins de diamètre fin et régulier, septés et ramifiés. Des filaments dressés, non cloisonnés appelées Conidiophores apparaissent sur les filaments végétatifs. Les conidiophores terminent par une vésicule de forme variable sur laquelle sont disposées les cellules phialides. Les phialides peuvent être insérées directement sur la vésicule (têtes unisériées) ou portées par des petites structures insérées sur la vésicule (têtes bisériées) nommées métules ou stérigmate (**Raper et Fennel, 1965**). Les conidies, sèches, disposées en chaînes divergentes ou associées en colonnes compactes, sont toujours unicellulaires, globuleuses, sub-globuleuses ou elliptiques, lisses ou ornementées, hyalines

ou pigmentées en jaune, vert, brun ou noir (Tabuc, 2007). L'ensemble vesicule + métules + phialides + conidies constitue la tête aspergillaire caractéristique du genre *Aspergillus*.

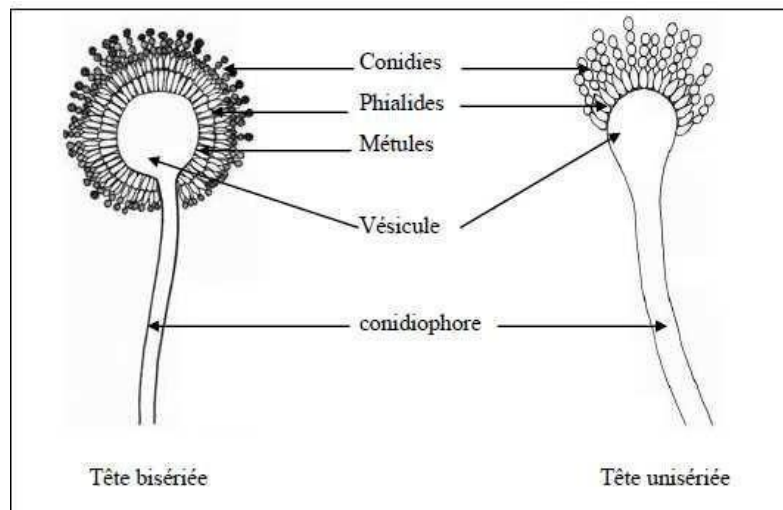


Figure n°04: Représentation schématique des têtes aspergillaires modifiée (Pitt et Hocking, 1997).

II.5. 3. *Aspergillus* section *Flavi*

Aspergillus section *flavi*, regroupe 22 espèces dont les plus préoccupante pour leur capacité à synthétiser des aflatoxines sont *A. flavi*, *A. parasiticus* et *A. nomius*. Cependant, d'autres espèces appartenant à ce groupe sont utilisées dans l'industries alimentaires comme *A. oryzae* et *A. sojae* (Amare et Keller, 2014). Ce sont des espèces étroitement liées et difficiles à distinguer les unes des autres. L'espèce *A. flavus* produit principalement l'AFB1 et l'AFB2, tandis que *A. parasiticus* produit les 4 aflatoxines (B1, B2, G1, et G2) (Diener *et al.*, 1987 ; D'Mello et MacDonald, 1997). Quelques rares exceptions de sécrétion de l'AFG1 et AFG2 par *A. flavus* ont été décrites (Wicklow et Shotwell, 1983 ; Gabalet *al.*, 1994). L'*A. nomius*, une espèce rare proche d'*A. flavus*, est capable de produire les aflatoxines (Kurtzman *et al.*, 1987).

Les espèces de la section *Flavi* sont capables de se développer à des températures comprises entre 10 et 48°C avec une température optimale de 33°C (Domsch *et al.*, 1980 ; Giorniet *al.*, 2007). Pour l'espèce *A. flavus*, la croissance optimale se produit à une température comprise entre 19 et 35°C (Northolt *et al.*, 1979).

Il est impossible de distinguer, macroscopiquement, les différentes espèces de la section *Flavi* du fait de la grande similarité entre elles et l'instabilité des caractères morphologiques qui caractérisent chacune d'elles. C'est pour cette raison que la distinction

se base parfois sur la nature des aflatoxines produites. Certaines souches d'*A.flavus* sont également connues par leur capacité à produire l'acide cyclopiazonique (CPA) (Giorni *et al.*, 2007).

Les espèces appartenant à la section *Flavi* contaminent divers aliments. Les aflatoxines sont généralement détectées dans les aliments des régions chaudes et humides. Elles ont été détectées dans les céréales, les noix, les graines oléagineuses, les fruits secs, les figes et le lait (Hocking, 2006 ; Medina *et al.*, 2006).

II.5.3.1. *Aspergillus flavus*

L'*A.flavus* est l'espèce la plus associée à la contamination de certaines cultures. Cette espèce peut contaminer plusieurs aliments comme le maïs, les arachides, les noix, ainsi que d'autres cultures. Sa croissance dans les produits agricoles s'accompagne souvent d'une production des aflatoxines (Chang et Ehrlich, 2010).

Elle se caractérise par un thalle vert jaune à vert olive, floconneux, plus dense vers le centre, lâche en périphérie. Des colonies granuleuses sur Malt Agar (MA) montrant un revers incolore à beige clair, fertile sur toute la surface alors que sur milieu Agar (AFPA), un revers orange caractéristique est observé (Pitt et Hocking, 1997). Les têtes aspergillaires ont une vésicule hémisphérique (25 à 60µm de diamètre) .ces têtes sont uni ou bisériées, selon leur degré de maturation radiées, de couleur vert jaune à vert olive. La vésicule est sphérique entièrement recouverte ou au trois quart, donnant des phialides verdâtres, à disposition radiaire ou en colonne. Les conidies gris pâle sont subsphériques à ellipsoïdales, échinulées. Les conidiophores sont long et les plus âgés sont rugueux. Morphologiquement, on peut distinguer deux catégories d'isolats. La première catégorie produit les sclérotés, de type « L » et la seconde catégorie produit les sclérotés de type « S » (Tabuc, 2007).

Une croissance, peut être observée à un intervalle de température compris entre 19 et 35°C. La température optimale de croissance sont comprises entre 29 et 35°C avec une production maximale d'aflatoxine située à 24°C (Campagnollo *et al.*, 2016).

II.5.3.2. *Aspergillus parasiticus*

Cette espèce se caractérise par un thalle vert jaune sombre, floconneux et des colonies granuleuses et denses sur Malt Agar, au revers incolore à beige clair. Le conidiophore de taille de 250 - 300 µm de couleur marron pâle à paroi échinulée. Les têtes aspergillaires sont majoritairement unisériées caractérisées par des vésicules sphériques de 30 – 35 µm de diamètre recouvert au trois quart, donnant des phialides verdâtres de 7-11µm portant des conidies sphériques de 4-6µm de diamètre à disposition radiaire ce qui diffère parfois

A.flavus caractérisée par des conidies plus petites. Les sclérotés sont parfois produits, ils ont sphériques de 400-800µm de diamètre, souvent blancs au début et deviennent noirs avec le temps (**Pitt et Hocking, 1997 ; Hedayati et al., 2007 ; Samson et al., 2010**).

A.parasiticus se développe sur une grande variété de substrats naturels dès que les conditions de température et d'humidité sont favorables. Ce champignon peut produire des mycotoxines dans les aliments et peut poser de sérieux risque pour la santé. Les aflatoxines produites par cette espèce sont les AFB1, AFB2, AFG1 et AFG2 (**Garcia et al., 2011**).

III.L'Arachide (Arachis Hypogea L)

III.1. Généralité et Définition

L'arachide (*Arachis Hygea L*), également appelée cacahuète, pois de terre, pistache de terre et pinotte (de l'anglais *peanut*) (**Krapovickas et Gregory, 1994**). Elle est cultivée partout dans le monde entre 40°N et 40°S (Smartt, 1994). Selon les statistiques de la FAO, la culture de l'arachide est répandue actuellement dans plus de 100 pays (**Manizan et al., 2018**).

L'arachide appartient à la famille des Fabacées, la tribu des Aeschynomenées, la sous-tribu des Stylosanthinées, au genre *Arachis*. Le genre *Arachis* comporte soixante neuf espèces diploïdes sauvage (**Krapovickas et Gregory, 1994**). Les arachides sont des plantes autogames, de 30 à 70cm de haut, érigées ou rampantes, à croissance continue dont le fruit mûrit en terre. Leur cycle végétatif est de 90 à 150 jours pour les variétés les plus tardives (**Schilling, 1996**).

Au plan nutritionnel, l'arachide est une oléo protéagineuse. La graine d'arachide contient 45 à 52% d'huile qui est de meilleures qualités nutritionnelles comparativement aux autres oléagineux, et est riche également en protéines (12à 36%). Elle constitue une importante source de protéines faciles à digérer, de sucres, de vitamines E, de vitamine A (**Dwevidi et al., 2003**).

III.2.Origine

L'arachide est une plante originaire du Brésil. De nos jours, s'est elle étendue jusqu'à la région tropicale de l'Asie et de l'Afrique. Il semble établi que l'arachide soit originaire de l'Amérique Tropicale : Perou Brésil ou Argentine (**Clement, 1981**).

L'origine de l'arachide est incertaine, d'après Chevalier (**citépar IBRA, 1988**), il ya une forte probabilité pour que cette plante soit originaire de l'Amérique du sud car aucune espèce spontanée n'est signalée en Afrique, alors qu'il en existe au Brésil (**IBRA, 1988**).

L'arachide est une plante tropicale originaire d'Amérique du sud. Le centre d'origine se situe à l'est des andes dans une région comprise entre le sud-est de la Bolivie, le nord-ouest de l'Argentine, le nord du Paraguay et la région ouest du Matto Grosso au Brésil (Ferguson et al., 2005).

III.3. Classification taxonomique

Selon Hubert en 2000, la position systématique du *Arachis hypogea* L est comme suit :

Tableau n°12 : Position systématique de l'Arachishypogea L (Hubert, 2000)

Règne	Végétal
Embranchement	Phanérogames
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Rosales
Ordre	Fabale
Famille	Légumineuses
Sous –famille	Papilionacées ou fabacées
Genre	Arachis
Espèce	Arachishypogea L

III.4. Composition chimique des arachides

Composition chimique des arachides selon le codex alimentarius est comme suit :

Tableau n°13 : Composition chimique des arachides selon le codex alimentarius (Hubert, 2000).

		Arachide (cacahuètes)	
Les valeurs		Quantité	AJR %
Valeur énergétique		636kcal	32 %
Lipide		49.6 g	71 %
Protéine		25.9 g	52 %
Glucide		14.8 g	5 %
Eau		1.01 g	
Vitamine	E	1.17 g	10 %
	C	0.0667 g	1 %

III.5. Description et présentation botanique

Le nom scientifique des arachides donné par Linné en 1753 est *Arachis Hygea L* (Gillier ,1969) . L'arachide est une légumineuse, plante annuelle à fleurs jaunes. La plante sait résister à la sécheresse et à la chaleur mais il lui faut un sol bien drainé. Elle vient à maturité en 100 jours environ dans un climat chaud, ce qui la rend particulièrement adaptée à la saison des pluies. L'habitude veut que l'on plante l'arachide en même avec d'autres cultures, comme le sorgho, le millet, les pois sauvages, le coton et les légumes (Patrick, 2008). Cette plante admet des caractéristiques particulières :

- Une racine pivote avec beaucoup de ramifications latérales, la racine principale pouvant atteindre une profondeur de plus de 1,30. L'absorption de l'eau et des sels minéraux se fait surtout par le parenchyme cortical des radicelles (Gillier, 1969).
- Plusieurs tiges dont une principale et des ramifications primaires peuvent avoir de 0,20 à 0,70m de long, selon les variétés et les conditions du milieu. Les ramifications sont toujours herbacées de couleur vert clair, vert sombre ou plus ou moins pourpre (Gillier, 1969). La tige est vert cylindre porte des poils fins, elle constituée des noeuds et entre noeuds petites proportionnelles (Debbabie et Shafchak, 2008).
- Des feuilles de couleur verte plus ou moins foncées et pennées. Elles sont constituées d'un pétiole d'une longueur de 4 à 9 cm portant deux ou trois paires de folioles membraneuses, ovales munies à leur base de deux stipules large, longues et lancéolées (Gillier, 1969).
- Un fruit se développant dans le sol à une profondeur de 3 à 5 cm (Gillier, 1969). Ce sont des gousses ovoïdes ou cylindriques de dimensions (longues de 1 à 8 cm et large de 0,5 à 2 cm (IBRA, 1998)), de formes et de couleurs variées selon les variétés (Abdoul, 2003). Il est composé d'une coque contenant 1 à 4 graines riche en huile (45-53%) (Gillier, 1969).

L'inflorescence de l'arachide se présente sous forme d'épis de trois à cinq fleurs. Les fleurs sont jaunes, papilionacées et sessiles. Chaque fleur a un calice constitué de 5 sépales vert clair, (IBRA, 1988), un androcée ayant 10 étamines soudées entre elles et un pistil formé d'un carpelle simple, sessile, de 0,5 à 1,5 mm de long. L'ovaire est inséré sur un support (le gynophore) qui l'enfouit sous la terre après la fécondation (Gillier, 1969).

Les grains, leurs poids variés de 0,2 à 2 g. La proportion des graines par rapport au poids de la gousse entière variée de 68 à 80 cm (**Hubert, 2000**).

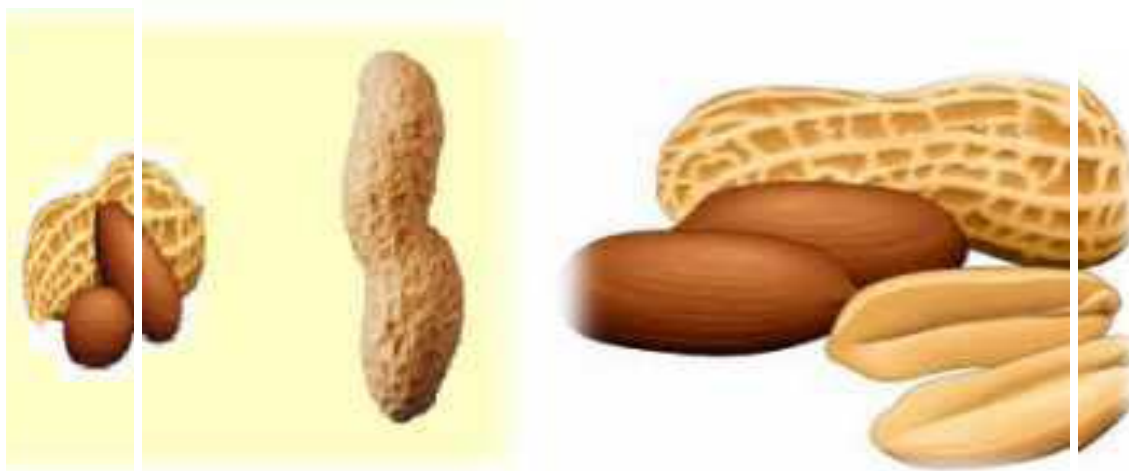


Figure n°05 : Graine d'arachide (Novello et Santamaria, 2005)

La graine de cacahuète contient des protéines et elle est riche en acides gras non saturés représentés par 60% d'acide oléique et en magnésium. Elle est également bien pourvue en potassium, en fer, phosphore et en vitamines (B, BZ, PP, E) (**Ah-Leung et al., 2003**).

III.6. Utilisation d'arachide

III.6.1. En alimentation humaine

- Huile d'arachide, utilisée comme huile de table ou comme matière première pour la fabrication de margarine, résiste bien aux hautes températures (friture) (**Boli et al., 2018**).
- Beurre de cacahuète (appelé beurre d'arachide au Canada).
- Farine d'arachide, aliment de complément employé en biscuiterie (désolé, riche en acides aminés essentiels)
- Arachide en coque (aliment de base dans certains pays d'Afrique).
- Arachides décortiquées, arachides grillées pour apéritif (mélangées à d'autres goûts E621, gélifiant E414, dextrose, farine de blé, levure en poudre, protéines végétales hydrolysées (soja, maïs), épices (paprika, macis), poudre d'oignon, arôme, graines de céleri), arachides pour confiserie (**Hubert, 2000**).
- L'arachide est également consommée en sauce en Afrique de l'Ouest. La sauce à la pâte d'arachides (obtenue en écrasant des arachides rôties) appelée maffé est une sauce aux légumes et à la viande. Elle accompagne le riz ou le couscous de petit mil,

de sorgho ou de maïs. Les arachides crues écrasées sont par contre cuites en sauce avec des feuilles et de la viande. Cette sauce accompagne exclusivement le couscous local.

- L'arachide est particulièrement importante pour la santé infantile du fait de sa forte teneur en nombreux nutriments essentiels à la croissance tels que les protéines, les graisses et le calcium (**Boli et al., 2018**).

III.6.2. En alimentation animale

Le tourteau d'arachide (résidu de la graine après extraction de l'huile) riche en protéine (48 à 50%), constitué pendant longtemps un élément important dans l'alimentation du bétail en Europe et singulièrement en France (**Sebie et al., 2011 ; Fonceka, 2010**).

Les fanes servent également à l'alimentation du bétail (équivalent aux fanes de pois), à tel point que dans certaines régions, l'arachide est cultivée pour la seule production de fanes (**Sebie et al., 2011 ; Hubert, 2000**). En foin, le séchage dure plusieurs semaines.

III.6.3. En agriculture

Comme toutes les légumineuses, l'arachide est une culture qui enrichit le sol en azote. Elle peut être utilisée comme engrais (**Debbabie et Shafchak, 2008**).

III.6.4. Utilisation médicinale

- Utiliser dans le diagnostic des boutons et les crises d'asthme (**Hubert, 2000**).
Des études médicales ont montré que la consommation de noix en général et d'arachide en particulier réduisait les risques de maladies cardiovasculaires (**Fraser, 2000 ; Albert et al., 2002**).
- Les valeurs nutritives de l'arachide ont été récemment mises à profit dans la composition d'aliments à haute valeur nutritive utilisés pour le traitement de la malnutrition sévère chez l'enfant (**Briend, 2001**).
- L'arachide à toutes sortes d'usage en médecines traditionnelles africaine et indienne (**Rakotoarimana, 2010**).
- Des extraits de gousse se prennent sous forme de goutte dans l'oeil pour traiter la conjonctivité.
- Des macérations de coques et téguments sont appliquées contre l'ophtalmie.
- Des infusions de feuille en goutte dans les yeux pour traiter les blessures oculaires et la cataracte.
- Le jus des feuilles et des graines bryées s'administre en goutte dans l'oreille atteinte d'écoulement auriculaire (otite par exemple).

- Des macérations de téguments sont employées contre la syphilis tandis que celle des graines contre lablennorragie.

III.7.Importance économique de l'arachide dans le monde

L'arachide occupe le 4^{ème} rang mondial des produits oléagineux après le soja, le coton, et le colza. Est une culture majeure dans la plupart des régions tropicales et subtropicales. Elle est cultivée sur tous les continents, dans 120 pays environ, sur une superficie totale de 24 ,6 millions d'hectares (**Fonceka, 2010**). Les pays les plus grands producteurs d'arachide se trouvent sur les continents asiatiques, africains et américains. La Chine et l'Inde sont les premiers producteurs (**Mazoyer, 2002**). La production mondiale de l'arachide en 2003 était d'environ 36 millions de tonnes dont les deux pays, la Chine et l'Inde représentent 59% (Tableau n°14) .

Tableau n°14 : La production mondiale des arachides (Anonyme, 2003)

Pays	Superficiel cultivée	rendement	Production
	Millions d'hectare	Quintaux / hectare	Millions de tonnes
Monde	26,46	13,48	35,66
Chine	5,13	26,24	13,45
Inde	8,00	9,38	7,50
Nigeria	2,80	9,64	2,70
Etats – unis	0,53	35,40	1,88
Indonésie	0,68	20,16	1,38
Soudan	1,90	6,32	1,20
Sénégal	0,90	10,00	0,90
Birmanie	0,58	12,70	0,73
Ghana	0,35	12,85	0,45
Tchad	0,48	9,37	0,45
Viêt – Nam	0,24	16,65	0,40

Matériels et Méthodes

I. Matériel

I.1. Objectif du travail

L'objectif recherché à travers cette étude, consiste à étudier la prévalence de contamination des arachides commercialisé par les moisissures mycotoxinogènes au niveau du marché des différentes communes de la wilaya de Batna (la recherche et la détection des aflatoxines dans les arachides commercialisées).

I.2. Date et lieu de travail

Notre étude a été conduite au niveau du laboratoire de microbiologie du département des sciences vétérinaires de l'Institut des sciences vétérinaires et des sciences agronomiques université El hadj Lakhdar wilaya de Batna et ceci durant la période allant du mois de Mai au mois de juin 2023.

I.3. Echantillonnage

Quarante-cinq (45) échantillons de graines d'arachides ont été collectées. Les échantillons ont été prélevés de différents points de vente dans différentes communes de la wilaya de Batna (Batna, Barika, Ain Touta, M'doukal). Les prélèvements ont été pris au hasard, mis dans des sacs en plastique propres et acheminés directement au laboratoire pour les analyses.

Les codes de nos échantillons sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau n°15 : codes des échantillons prélevés

Code	Arachide	Nombre	Date de prélèvement	Quantité
Ar. Nd S 1→9	Arachide non décortiqué salé	09	Mois de Mai	2700g
Ar. E.S 1→9	Arachide avec enveloppe salé	09	Mois de Mai	2700g
Ar.Nd. Ss 1→9	Arachide non décortiquée sans sel	09	Mois de Mai	2700g
Ar. E.Ss1→9	Arachide avec enveloppe sans sel	09	Mois de Mai	2700g
Ar. Se.Pb. Ss 1→9	Arachide sans enveloppe avec peau blanche sans sel	09	Mois de Mai	2700g

I.4.Précautions d'échantillonnage

Il faut noter que les résultats des examens microbiologiques n'ont de valeur que si certaines précautions d'échantillonnage ont été respectées :

- Avant toute analyse, il convient de prélever un échantillon représentatif du produit à analyser ;
- Prises d'échantillon avec des instruments stériles ;
- Mise de l'échantillon dans des récipients ou sachets stériles ;
- Respect des règles d'hygiène générale pour la personne effectuant le prélèvement ;
- Rapidité de l'acheminement des échantillons dans un endroit frais et sec (08 à 15°C) mais jamais à des températures négatives (**Dunoyer., 1989**).

Sutra et al (1998), stipulent que les échantillons doivent être prélevés rigoureusement au hasard, en évitant les biais (par exemple, éviter des prélèvements "systématiques" en début ou en fin de production).

I.5.Souches de références et standards

Deux souches de référence ont été utilisées dans cette étude. Il s'agit des souches *Aspergillus flavus* NRRL 3251T et *Aspergillus parasiticus* CBS 100926T, fournies par l'INRA de Toulouse.

Des solutions standard d'AFB1 (200µ/L), AFG1 (200µ/L), ont été utilisées à partir de chaque une de ces solutions, des dilutions ont été préparées dans les conditions appropriées pour obtenir les concentrations désirées.

I.5.Préparation des milieux de culture

Dans le but d'isolement, de purification et d'identification des principaux genres et espèces fongique, les milieux de cultures suivants ont été préparés :

- Milieux DRBC (Dichloran, Rose Bengale, Chloramphénicol), utilisé pour réduire le développement des champignons à croissance rapide dits envahissants (*Rhizopus*, *Mucor*) et permettre la croissance d'autres espèces fongiques appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* (**King et al., 1979**).

- Milieu PDA (Potato, Dextrose, Agar), utilisé pour la purification et la conservation des souches (**Raper et Fennell., 1965**).

- Milieu CAM (Coconut Agar Medium) (**Davis et al. 1987**), utilisé pour la mise en évidence du pouvoir producteur d'AFs par les isolats *Aspergillus* section *Flavis*.

- Milieu CYA (Czapek, Yeast, Agar) (**Pitt et Hocking, 1997**), utilisé pour l'identification morphologique des principaux genres et espèces fongiques ainsi pour la production d'AFs et de CPA.

La composition chimique de ces milieux de culture se trouve dans l'annexe.

I.6. Matériels et appareils

La liste des produits et des appareils utilisés durant ce travail figure dans l'annexe.

II. Isolement de la flore fongique

II.1. Isolements et dénombrement de la flore fongique

C'est la méthode de dilution classique qui concerne les aliments fractionnés. Elle permet d'isoler la flore fongique total se trouvant à l'intérieur et à l'extérieur de l'échantillon. 10g pour chaque échantillon finement broyé et homogénéisé sont mis dans un erlenmeyer stérile de 250 ml contenant 90ml d'eau stérile additionnés de Tween 80 à 0,005 % (50µl de tween par 5ml d'eau) et homogénéisé par agitation durant 15 min. Des dilutions décimales (10^{-2} et 10^{-3}) sont réalisées à partir de la solution mère (10^{-1}). Un volume de cent microlitres de chaque dilution sont ensemencées sur la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu DRBC (**King et al., 1979**). Trois répétitions ont été réalisées pour chaque échantillon. Les boîtes de Pétri ensemencées ont été incubées à 28°C pendant 5 à 7 jours à l'obscurité. La charge fongique est déterminée par comptage des colonies est exprimée en UFC (Unité Formant Colonie) par gramme d'échantillon (UFC/g). Le dénombrement a été réalisé sur les boîtes de Pétri contenant entre 10 et 100 colonies. Quand l'échantillon est peu contaminé par les moisissures c'est à dire que le nombre de colonies par boîte est inférieur à 10, les boîtes de la plus faible dilution sont utilisées pour le dénombrement.

II.2. Repiquage et purification

Après le développement des colonies, on effectue des repiquages de chaque colonie pour purifier les champignons et minimiser les risques de contamination, jusqu'à arriver à isoler sur chaque boîte de Pétri une seule colonie d'un champignon donné (**Guiraud, 1998**).

Le repiquage se fait par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une anse stérilisée tout en évitant son contact avec les autres colonies avoisinantes de la même boîte sur un milieu PDA.

Ce fragment est déposé au centre d'une nouvelle boîte sur laquelle on indique la date de repiquage et les coordonnées de la boîte de prélèvement, le repiquage se fait aseptiquement près du bec Bunsen et les boîtes sont incubées à 28°C pendant six jours

jusqu'à l'obtention des souches pures. Les souches pures obtenues sont ensuite conservées à + 4°C. (Figure n° 06).

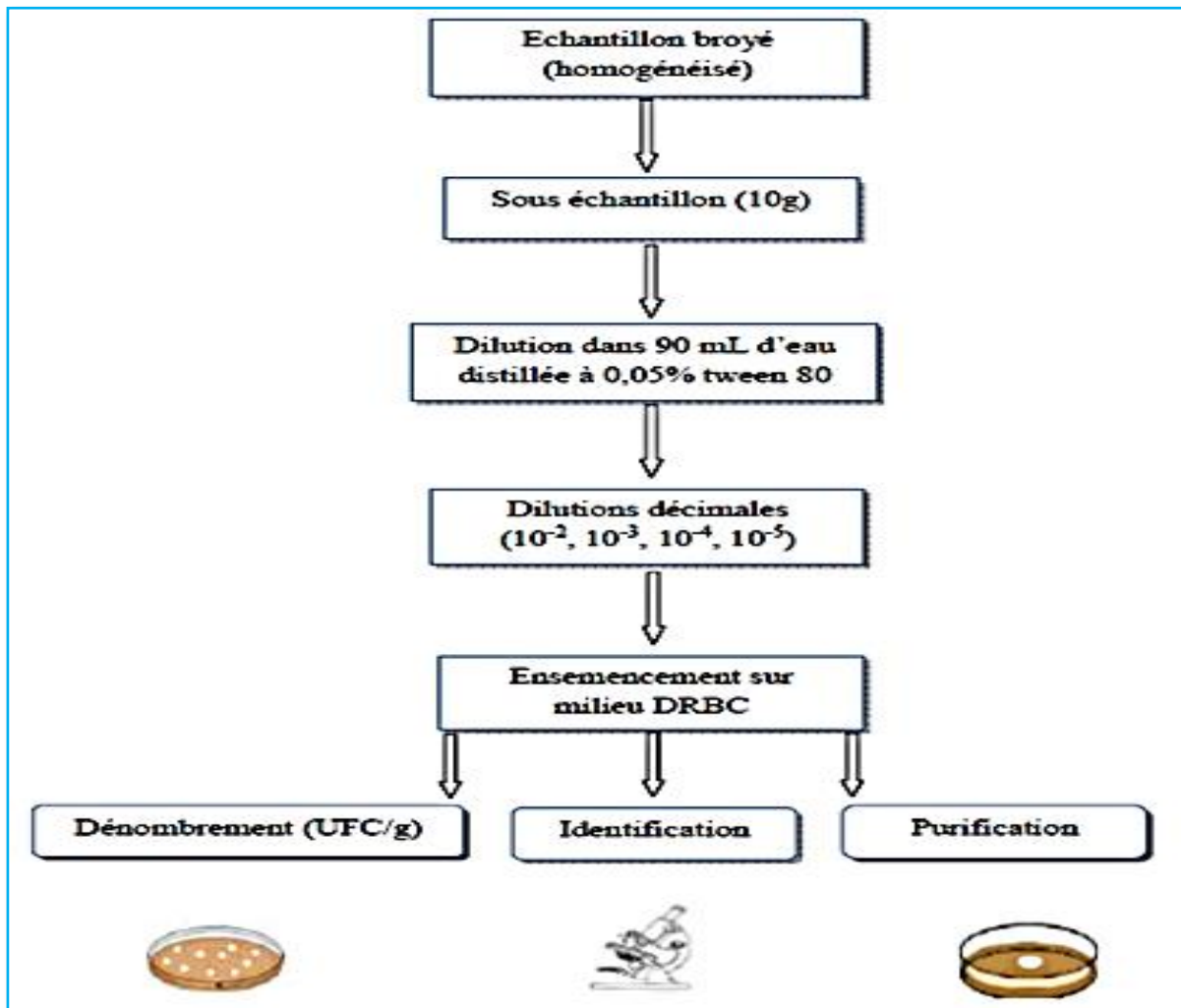


Figure n° 06: Représentation schématique de la procédure expérimentale utilisée pour l'analyse fongique.

11.3. Identification des isolats fongiques

L'identification morphologique des champignons, fait essentiellement appel aux caractères cultureux et morphologiques des moisissures isolées à l'état pure (**Botton et al.,1990**).

L'identification reste l'opération la plus difficile dans le domaine de la mycologie, elle a pour but de classer les souches fongiques par genres et espèces selon les critères d'identification (**Botton et al. 1990**).

C'est une étude corrélative entre les caractères macroscopiques et microscopiques.

11.3.1. Identification macroscopique

Tout d'abord l'identification a débuté par une observation macroscopique (à l'œil nu) des colonies des champignons qui se sont développés, ensuite par l'utilisation d'une loupe binoculaire. Cette observation est réalisée sur la face et le revers de la boîte.

Les caractères étudiés sont :

Au niveau mycélium : la couleur et la texture du thalle, la couleur du verso de la colonie, le contour de la colonie et la vitesse de croissance apicale.

Au niveau des spores : la densité sur le thalle, l'aspect des spores (granuleux poudreux), la présence de pigment diffusible et les exsudats (Djossou *et al.* 2011).

II.3.2. Identification microscopique

Elle se base sur le mode de groupement, taille et couleur des conidies et l'ornementation, présence ou l'absence de mutules, forme et taille de la vésicule. Elle se fait par deux méthodes :

II.3.2.1. Prélèvement 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 (X 100, X 400).

II.3.2.2. Prélèvement direct avec un ruban adhésif transparent :

La technique de scotch consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame contenant quelques gouttes de lactophénol (Chabasse *et al.*, 2002). A partir des mêmes cultures on prend un autre fragment de scotch et on le récolte sur une lame préalablement étalée par une goutte de bleu de méthylène diluée avec deux gouttes de l'eau physiologique. Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements x10, x40 et x100 à l'aide d'un microscope (Guezlane *et al.*, 2012).

Cette technique permet aux spores et au mycélium d'adhérer à la surface du scotch ce qui permet de les observer directement au microscope photonique. Dans ce cas, les spores de morphologie caractéristique peuvent être identifiées sans équivoque (*Alternaria*, *Cladosporium*, *Stachbotrys*...), alors que les spores de faibles diamètres et présentant des ornements ne peuvent pas être différenciées (*Penicillium*, *Aspergillus*).

III. Analyse mycotoxicologique

Tous les isolats appartenant aux genres *Aspergillus* reconnus producteurs, sont testés pour leur capacité de produire des AFs.

III.1. Détection des aflatoxines par fluorescence sur milieu de culture

Les Aflatoxines sont des substances fluorescentes puissantes qui peuvent être détecté généralement sous UV à une longueur d'onde de 365 nm.

Le criblage des isolats d'*Aspergillus* est réalisé sur milieu de culture à base de noix de coco (CAM), additionné de 0,3 β -cyclodextrine pour augmenter l'intensité de fluorescence (Rojas *et al.*, 2005 ; Fente *et al.*, 2001).

Dans le milieu CAM, L'AF combinées aux matières grasses de la noix de coco, émet une fluorescence visible sous lumière ultraviolette (365nm), surtout sur le revers de la colonie (Davis *et al.*, 1987).

Les souches d'*Aspergillus* ont été inoculées par pointes centrales (une souche par boîte) sur milieu CAM. En effet, après 48 à 72 heures d'incubation à 28°C. Les isolats produisant les AF de type B et G émettent une fluorescence bleue et verte, respectivement, autour de leurs colonies sous UV (Bragula *et al.*, 2001).

III.2. Extraction des AFs du milieu de culture

La production des aflatoxines par *Aspergillus Flavus* a été confirmée par chromatographie sur couche mince, les cultures des isolats sur milieu CAM ont subi une extraction au méthanol

Selon la méthode décrite par Calvo *et al.*, 2004, six rondelles de 10mm de diamètre de milieu colonisé par le mycélium sont découpées à l'aide d'une compresse du centre vers la périphérie de la boîte de pétri (60 mm de diamètre), les carottes découpées sont pesées puis introduites dans des tubes Eppendorf de 2ml, l'extraction des aflatoxines est réalisée par l'addition de 1ml de méthanol, tout en écrasant les morceaux de gélose afin de faciliter l'extraction. Après incubation pendant 1 heure à température ambiante et à l'abri de la lumière, le mélange est centrifugé pendant 10 minutes à 1200 tours/min puis le surnageant est aspiré à l'aide d'une micro-seringue puis injecté dans un autre tube Eppendorf, le filtrat est conservé à l'abri de la lumière et à une température de +4°C pour une analyse ultérieure (Figure n°07).

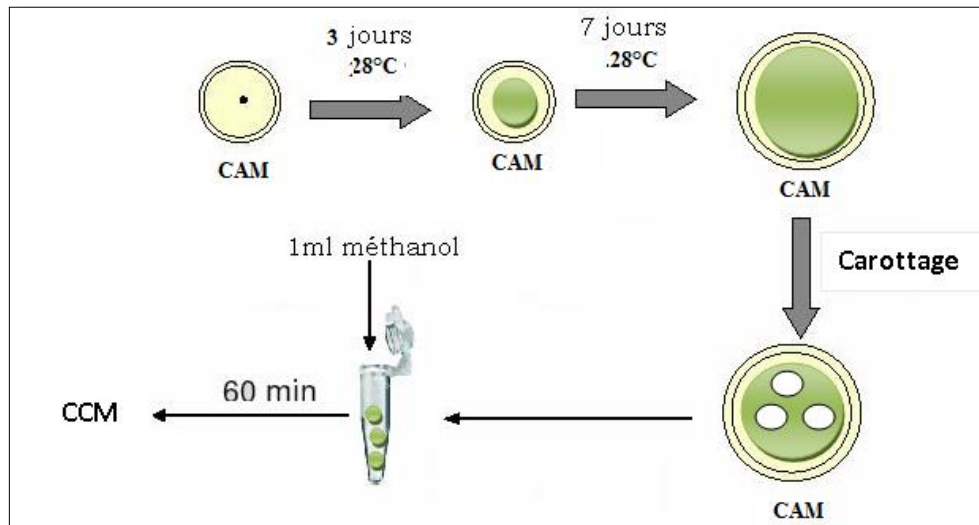


Figure n°07: Schéma du protocole d'extraction des aflatoxines à partir des isolats cultivés sur milieu CAM.

III.3. Détection et confirmation des AFs par chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (CCM) c'est la méthode de séparation la plus simple, utilisée pour la détection des AFs décrite par l'AOAC, 2000 (Official Methods of Analysis).

Elle consiste à déposer un aliquote de 10 à 15 μ l (aspiré par une micro-seringue) de l'extrait à analyser sur plaques (20 x 20 cm, 0,25 mm d'épaisseur) de gel de silice-60 254F (Merck). A cet effet, les spots (aliquotes) sont déposés à 2cm du bord. Dans chaque plaque 8 à 9 échantillons sont spotés, espacés de 2cm. La séparation ou développement est effectuée, dans une cuve en verre fermée (20 x 20 cm), par le contact de la plaque avec la phase mobile. Les solvants de développement sont le chloroforme et l'acétone (95 :5v/v).

✓ Dépôt des extraits à analyser

- Tracer une ligne droite sur une plaque aux deux cotés sur la même plaque de CCM.
- A l'aide d'une micro-seringue, déposer un aliquote de 10 à 15 μ l sur la plaque de CCM à 2 cm du bord inférieur soigneusement en évitant d'abimer la surface de la plaque. Ces précautions sont importantes pour l'obtention d'une bonne qualité de séparation des AFs. Sur une même plaque plusieurs échantillons peuvent être spotés avec des intervalles de 1,5 à 2cm.

-Un volume de 15µl d'une solution standard de 1µg/ml d'AFB1 est spoté au même temps que les extraits des échantillons analysés, et un extrait d'aflatoxine G1, obtenu à partir d'*A.parasiticus* CBS 100926 a été utilisé comme témoin.

- Pour éviter de grosses taches sur la plaque, le volume à déposer est spoté délicatement à petites gouttes puis séchées à l'aide d'un séchoir.

- Saturer la phase mobile pour éviter l'évaporation du solvant en utilisant une feuille de papier imbibée de la phase mobile sur la paroi de la cuve.

- Déposer la plaque verticalement dans la cuve à chromatographie qui contient la phase mobile composée de chloroforme/acétone (95,5v/v), le solvant migre jusqu'à ce qu'il atteigne la ligne limite du bord supérieur. Retirer la plaque de la cuve et la laisser sécher à température ambiante pendant 15 minutes.

- Les AFs sont détectés en plaçant les plaques sous lumière U.V (365nm). Les AFB et G apparaissent sous forme de tâche bleue et verte respectivement. Une comparaison des rapports frontaux (Rf) des extraits avec ceux des standards et de l'intensité de la fluorescence des taches permettent de confirmer la présence d'AFs et d'apprécier les quantités produites.

Résultats

Résultats

Les arachides sont des graines oléagineuses et ce sont des substrats adéquats au développement et à la prolifération des moisissures et représentent par conséquent un risque de contamination par les mycotoxines.

Malgré, l'apparence saine de la variété des échantillons prélevés, et l'absence d'odeur moisie, l'étude de la qualité microbiologique a révélé la présence des moisissures dans cette dernière, mais avec des taux de contamination différent d'un échantillon à un autre.

I. Isolement de la flore fongique

Les moisissures toxigènes peuvent se développer sous tous les climats, sur tous les supports solides ou liquides dès l'instant qu'il y'a des éléments nutritifs et de l'humidité, d'où la grande variété des substrats alimentaires pouvant être contaminés (AFSSA., 2009).

La recherche de la flore fongique totale concerne l'ensemble de moisissures présentes au niveau des grains d'arachide.

L'isolement, la sélection et l'identification des champignons nécessite l'utilisation de la méthode indirecte.

I.1. Isolement et dénombrement de la flore fongique.

Après les séries des dilutions qui ont été étalées sur le milieu DRBC et incubation à 28°C pendant 5 à 7 jours, Les résultats de dénombrement indiquent que 34,81% des échantillons collectés sont contaminés par les moisissures avec une charge fongique très importante ($1,5 \times 10^3$ UFC/g). La densité de la flore fongique varie considérablement d'un échantillon à un autre, sept échantillons d'arachide avec enveloppe salé et deux échantillons d'arachide non décortiqué salé et un échantillon non décortiqué sans sel ont été caractérisés par une absence de contamination fongique lors des isolements

Les résultats obtenus (figure n°08) montrent une forte contamination fongique des échantillons d'arachide sans sel, arachide sans enveloppe à peau blanche sans sel sont les plus contaminés $1,5 \times 10^3$ UFC/g (68,88%), suivi par les arachides avec enveloppe $1,3 \times 10^3$ UFC/g (54,81 %) et les moins contaminés sont les arachides sans sel décortiqué dans le laboratoire $0,63 \times 10^2$ UFC/g (25,18%).

Par contre, Une faible charge fongique a été rencontrée dans les échantillons d'arachides salées décortiqué dans le laboratoire $0,44 \times 10^2$ UFC/g (17,77%) et la plus faible densité de la flore fongique été dans les arachides salé avec enveloppe $0,18 \times 10^2$ UFC/g (7,40%) (Les résultats de l'analyse fongique sont consignés dans le tableau n°16). La plus forte contamination a été notée dans les échantillons collectés à M'doukel.

On a pu constater que les taux de contaminations les plus élevés étaient dans l'arachide décortiquée alors que les moins contaminées sont celles non décortiquées.

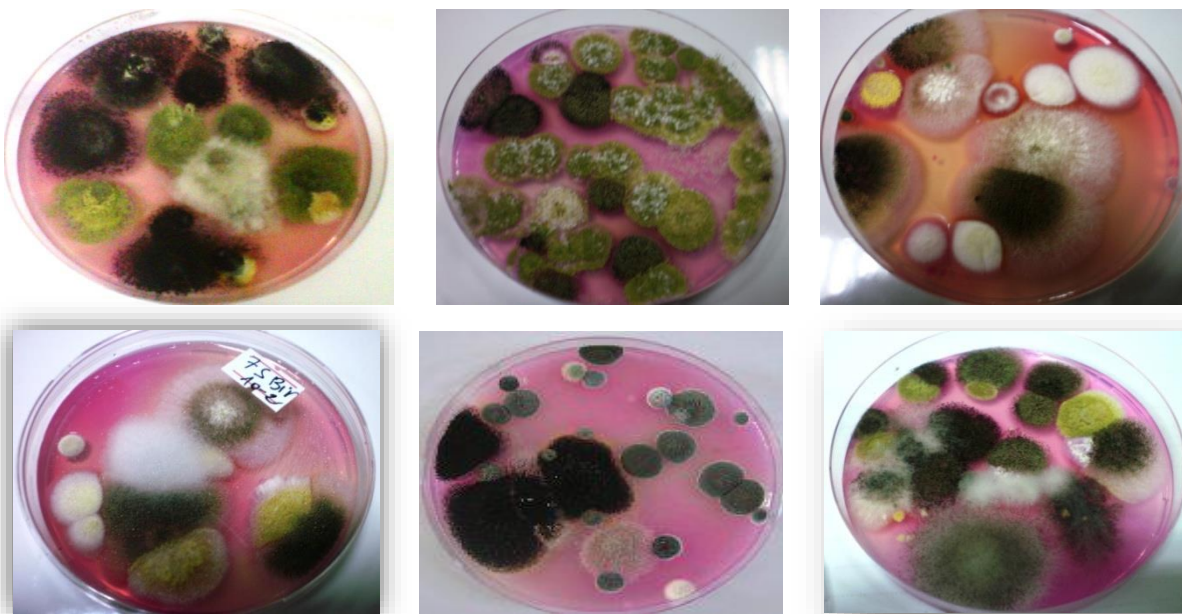


Figure n°08: Colonies des moisissures poussant sur milieu DRBC après 5 jours d'incubation à 28°C.

Tableau n° 16 : Représentation des taux de contamination (TC) et la densité de la flore fongique des différents échantillons

Arachide	Flore fongique totale (ufc/g)	Taux de contamination
Ar.Nd.S	$0,44 \times 10^2$	17,77%
Ar.E.S	$0,18 \times 10^2$	7,40%
Ar.Nd.Ss	$0,63 \times 10^2$	25,18%
Ar.E.Ss	$1,3 \times 10^3$	54,81%
Ar.Se.Pb.Ss	$1,5 \times 10^3$	68,88%

Le pourcentage de contamination fongique obtenu selon chaque type d'arachide, est représenté dans la figure n°09.

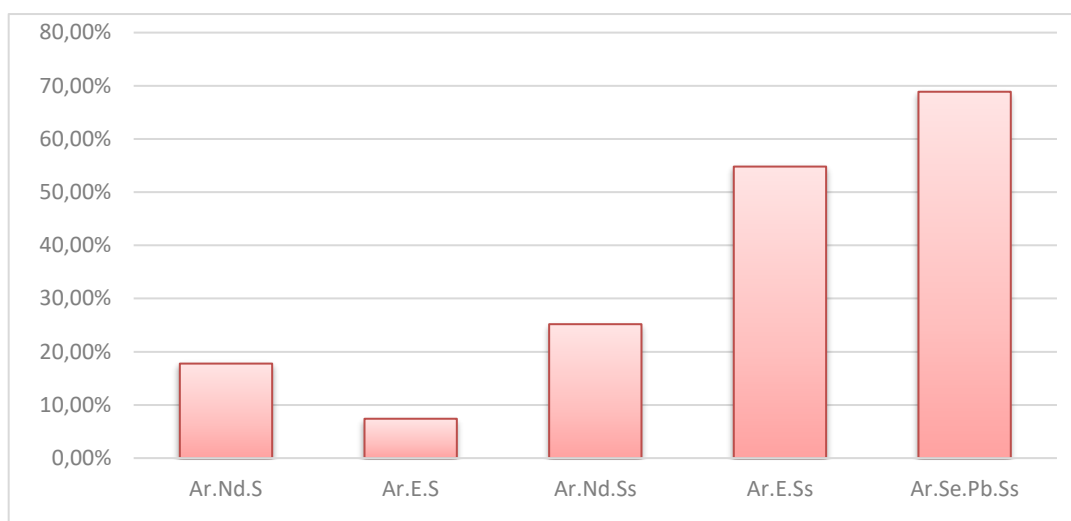


Figure n°09: Pourcentage de contamination fongique obtenue à partir des arachides

L'isolement des moisissures abouti à la sélection de (03) trois isolats répartis comme suit :

- *Aspergillus* –*Penicillium* et –*Mucor*. Le pourcentage des isolats obtenu est représenté dans la figure 10

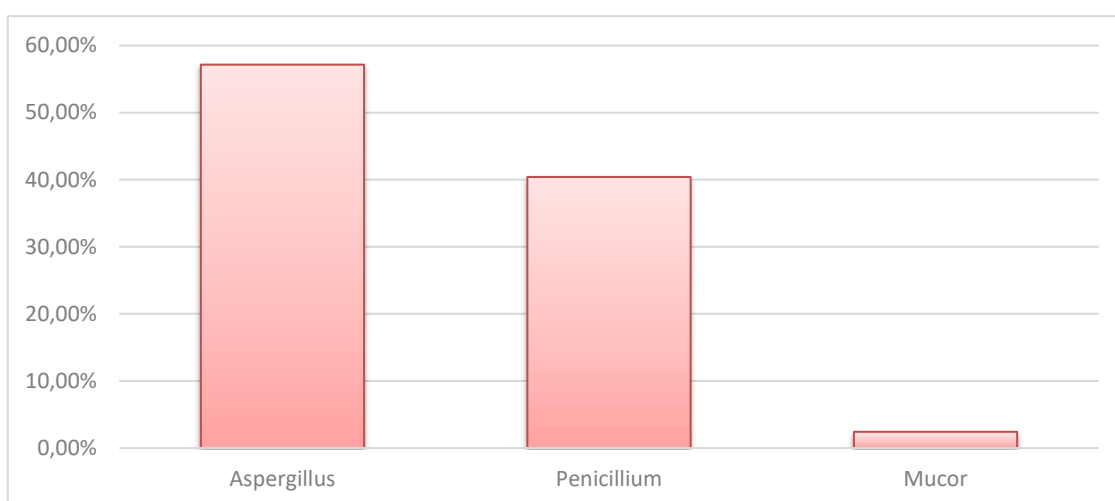


Figure n°10: Pourcentages des isolats obtenus à partir des échantillons d'arachides analysés

Les résultats de notre travail ont montré une dominance du genre *Aspergillus* dans la majorité des échantillons analysés avec des taux variés. Cependant, la fréquence de ce genre dans les échantillons d'arachides non décortiquées (avec ou sans sel) est respectivement de 83,16% et 88,17%, tandis que les arachides décortiquées (avec ou sans enveloppe) sans

sel présentent les taux 36,47 % et 39,92 % respectivement. Ces derniers sont beaucoup plus contaminés par le genre *Penicillium* qu'*Aspergillus* 63,51% et 60,06% (figure n°11).

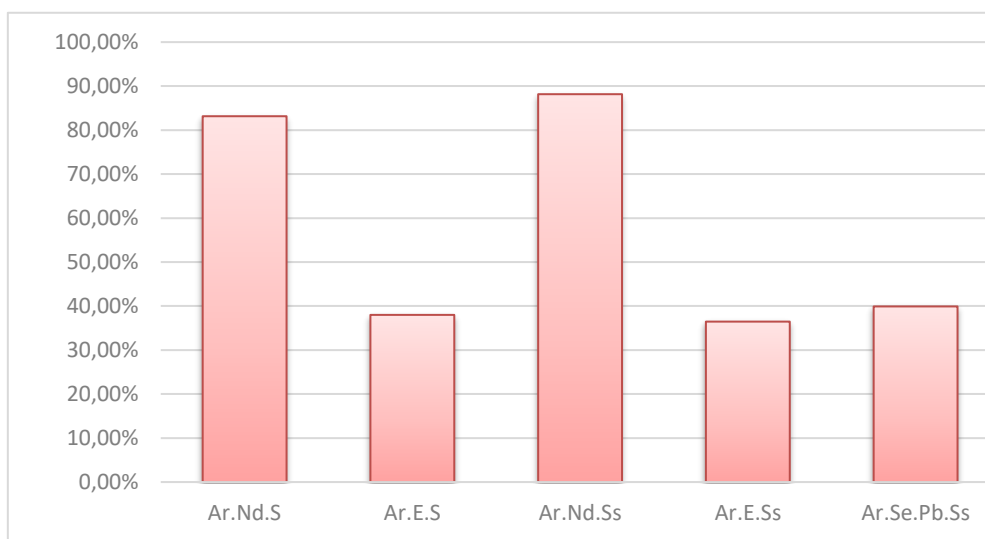


Figure n°11: Fréquence du genre *Aspergillus* dans les échantillons analysés

Le genre *Penicillium* a été aussi isolé à des proportions très variables allant de 5,88% à 63,51%, ce genre est dominant surtout dans les échantillons d'arachide décortiquée salé 62% et sans sel (avec enveloppe 63,51% et sans enveloppe 60,06%), il est faiblement présents dans des échantillons non décortiquée (salé 10,66%, sans sel 5,88%) (Figure n°12).

Les autres moisissures isolées mais à des faibles taux sont : les *candidus* et les *mucors*

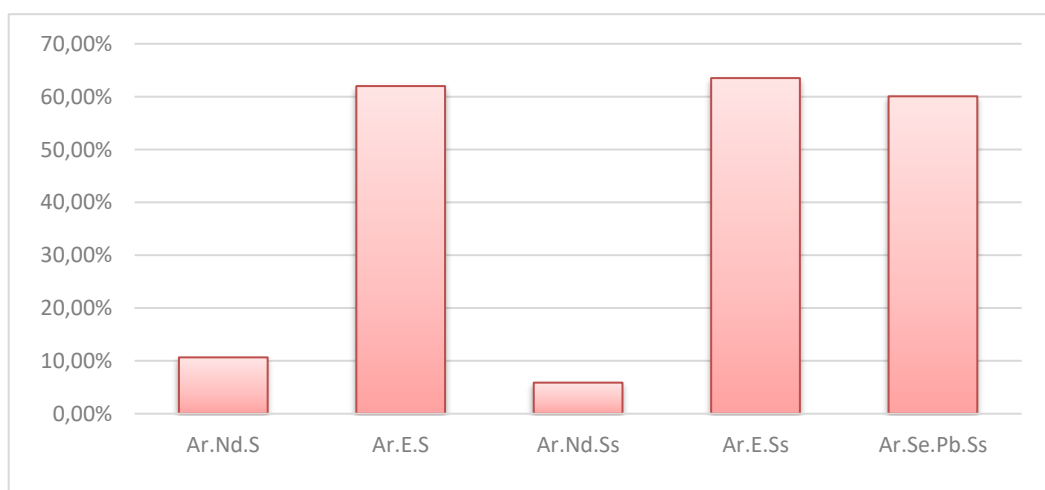


Figure n°12 : Fréquence du genre *Penicillium* dans les échantillons analysés

I.2. Distribution des isolats d'*Aspergillus* section *Flavi* et d'*Aspergillus* section *Nigri*

Les isolats d'*Aspergillus* section *Flavi* et d'*Aspergillus* section *Nigri* représentent respectivement une moyenne de 37,47% et 18,26 % du genre *Aspergillus*. On note une dominance de la section *Flavi* dans tous les échantillons par rapport à la section *Nigri*. Ainsi les taux de contamination des échantillons par les isolats de la section *Flavi* les plus élevés sont surtout enregistrés dans les échantillons d'arachide non décortiqué (salé avec 58,33% et sans sel avec 53,94%). Les taux de contamination les plus faibles sont enregistrés dans les échantillons d'arachide décortiquée sans sel (avec enveloppe 20,02 % et sans enveloppe 24,10 %). (figure n°13) et (figure n°15)

En outre, les taux de contamination des échantillons par les isolats de la section *Nigri* les plus élevés sont surtout enregistrés dans les échantillons d'arachide non décortiqué (salé avec 24,83% et sans sel avec 34,23%). Les taux de contamination les plus faibles sont enregistrés dans les échantillons d'arachide décortiquée sans sel (avec enveloppe 16,45 % et sans enveloppe 15,82%). On note aussi l'absence d'*A.Nigri* dans les échantillons d'arachides décortiqués salés. (Figure n°14)

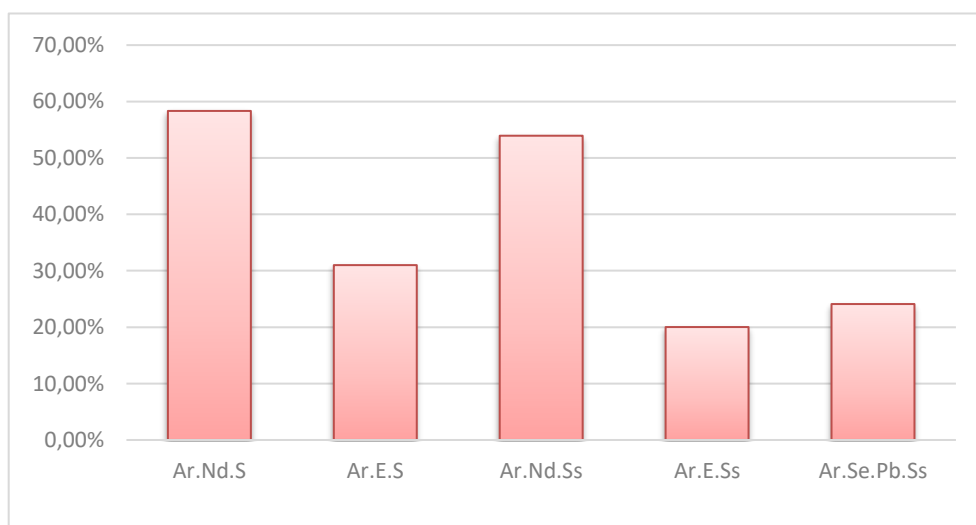


Figure n°13 : Fréquence des *Aspergillus* section *Flavi* dans les échantillons analysés

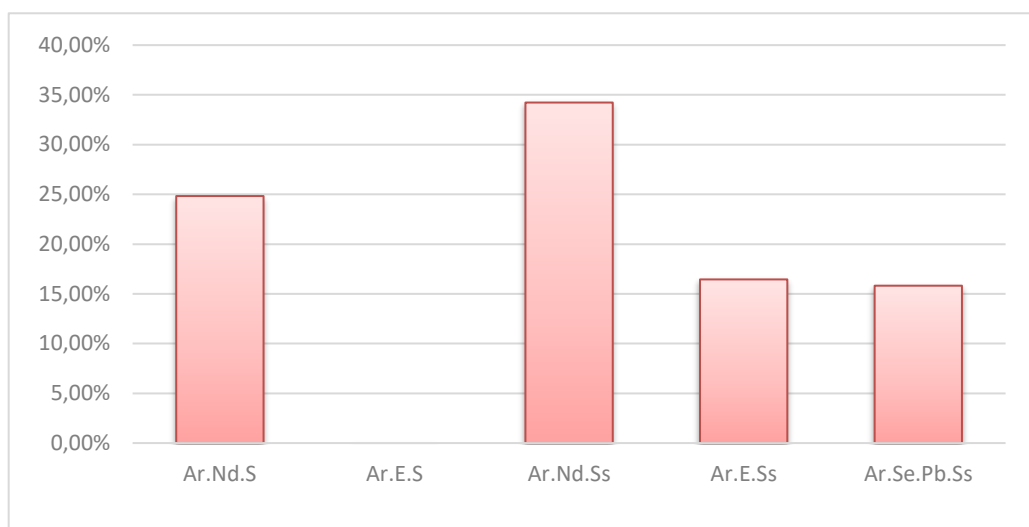


Figure n°14 : Fréquence des *Aspergillus section Nigridans* dans les échantillons analysés

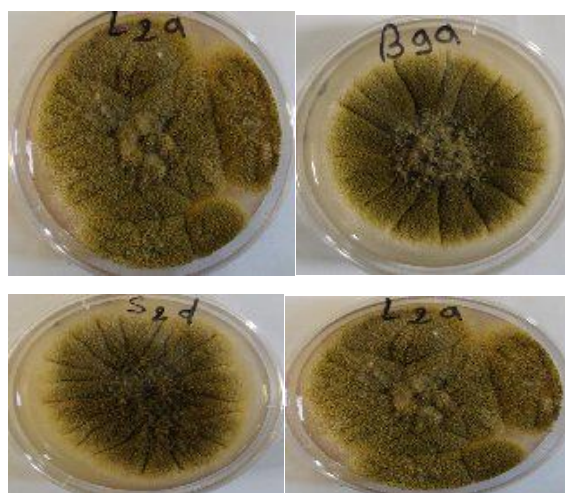
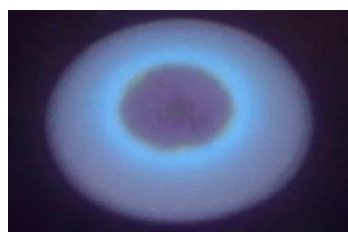


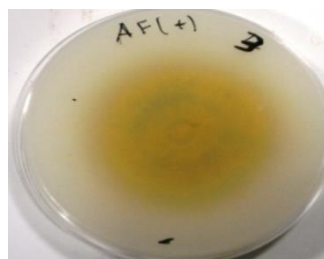
Figure n°15. Aspect macroscopique d'*Aspergillus section Flavis* sur milieu CYA.

II. Etude du pouvoir de production d'aflatoxine sur milieu CAM et par CCM

Nous avons étudié le pouvoir producteur d'aflatoxines des souches d'*Aspergillus section Flavis* isolée des échantillons d'arachides. Le criblage des isolats aflatoxinogènes a été réalisé sur milieu à base d'extrait de noix de coco (CAM) par la mise en évidence de la fluorescence bleue sous UV à 365 nm sur milieu CAM. Le pouvoir producteur des isolats ayant donné une fluorescence bleue et un revers du milieu CAM jaune orangé. La production des AFs est ensuite confirmée par la chromatographie sur couche mince CCM en utilisant un standard d'AFB et d'AFG. La fluorescence des AFS est illustrée sur la (Figure n°16) ;

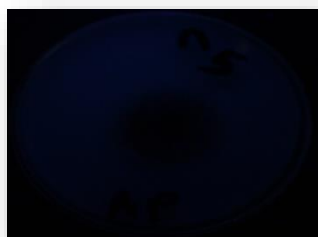


Fluorescence bleue sous UV

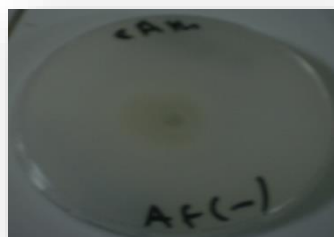


Revers jaune orangé

Isolat producteur d'AFs



Absence de fluorescence bleue sous UV



Revers beige

Isolat non producteur d'AFs

Figure n°16 : Mise en évidence par fluorescence sous UV de la production des AFs

Les résultats ont révélé un taux de production de 38,54% et 41,66%, respectivement sur milieu CAM et sur CCM. L'analyse par CCM des différents extraits obtenus indique un taux de production plus élevé, 3 isolats faiblement producteurs s'avèrent être de faux négatifs sur CAM. Ce qui démontre que la CCM est plus performante. On note que toutes les souches ayant montré une fluorescence sur milieu CAM se sont avérées aflatoxinogènes sur CCM et l'intensité de ce dernier est liée à la concentration des aflatoxines produites par la souche. La majorité des isolats aflatoxinogènes produisent l'AFB. (figure n°17)

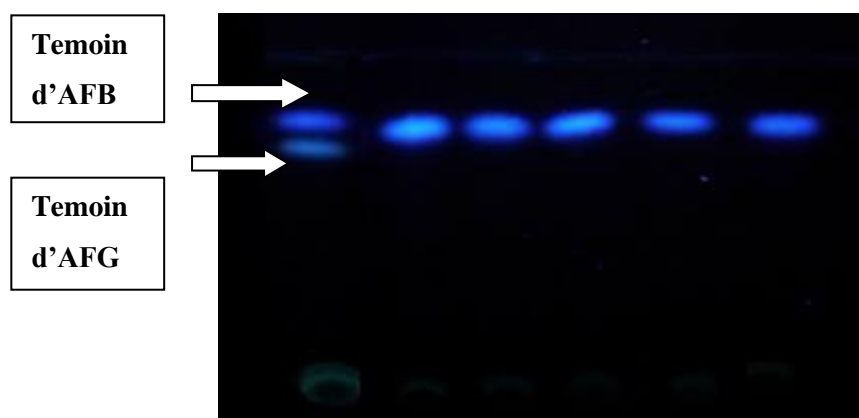


Figure n°17: Mise en évidence par fluorescence bleue sous lumière U.V. de la production des AFS par *Aspergillus flavus* sur CCM

II.1. Les souches aflatoxinogènes isolées des échantillons d'arachides

Sur les 96 isolats d'*Aspergillus* section *Flavis* isolés des arachides, 40 isolats (41,66%) ont révélés des producteurs d'AFs. Nous remarquons que les échantillons d'arachides décortiquées sans sel sans enveloppe sont les plus contaminé par les isolats d'*Aspergillus* section *Flavi* producteurs d'AFS (19,79%) suivies des arachides décortiquées sans sel avec enveloppe (15,62%). Les arachides non décortiquées salé et sans sel et les arachides décortiquées salé sont moins contaminés par les isolats aflatoxinogènes. Les pourcentages respectifs de ces isolats dans ces échantillons sont de 2,08 %, 3,12% et 1,04 % (figure n°18). En fonction des régions, les isolats aflatoxinogènes sont répartis comme suit ; M'doukel (20 %), Barika (15%), Ain Touta (8 %) , Batna (5%) (figure n°19) .

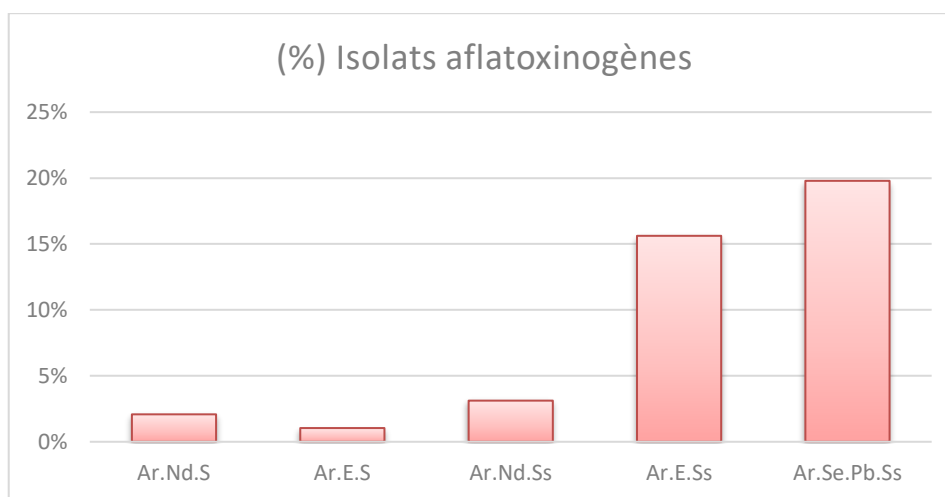


Figure n° 18: Fréquence des isolats d'*Aspergillus* section *Flavi* producteurs d'AFs en fonction de type de produit.

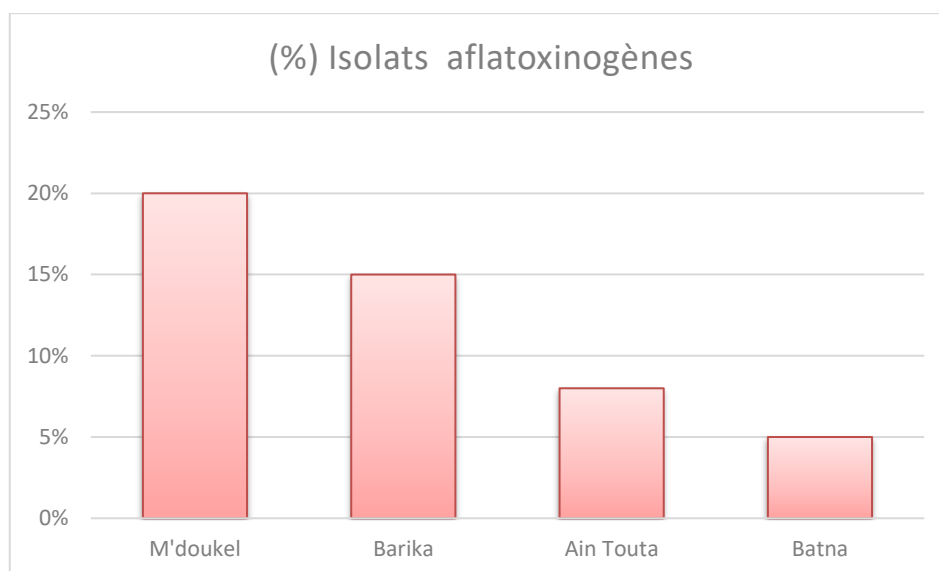


Figure n°19 : Fréquence des isolats producteurs d'AFs en fonction des régions

Discussion

Les arachides sont probablement les graines oléagineuses les plus étudiées pour la présence de champignons et la production des mycotoxines en particulier les aflatoxines.

Dans notre travail une analyse de la contamination des arachides a été réalisée en prenant en considération deux éléments qui sont : la présence ou l'absence de la coque et la présence ou l'absence de sel.

Une faible charge fongique a été rencontrée dans les arachides salé (non décortiqué et avec enveloppe) en comparaison avec celles sans sel (non décortiqué, avec enveloppe et sans enveloppe). Ces observations pourraient être expliquées par le traitement avec le sel subit sur les arachides. Le sel déshydrate l'aliment et pénètre à l'intérieur. Cependant les micro-organismes (tel que les champignons) susceptibles de gâter la nourriture ne peuvent pas croître correctement (le sel inhibe la croissance de nombreux germes) lorsque la teneur en sel est supérieure à 15% (**Gaubert, 2021**). Ils lient l'eau présente dans les aliments et agit sur le pH. (**Site 1**). On a aussi remarqué que même si les taux de contamination étaient largement différents entre ces deux types d'arachides, la nature des espèces fongiques qui prédominent restait la même et était représentée par les genres *Aspergillus* et *Penicillium*.

D'après nos résultats on a remarqué que les arachides non décortiquées sont faiblement contaminées par rapport aux arachides décortiquées. Les coques agissent comme une protection contre les champignons qui pénètrent les graines, durant les phases de récolte, de transport et surtout de stockage, leur rupture par des dommages mécaniques, par des insectes ou pendant les périodes de stress provoquées par la sécheresse dans les dernières étapes de la croissance augmente les chances d'une contamination fongique (**Kaaya et warren, 2005 ; Mutegi et al., 2013**).

L'analyse de la flore fongique d'arachide a révélé la présence de trois genres avec des pourcentages différents : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*. Une nette prédominance du genre *Aspergillus* suivi par *Penicillium* (57,14%) a été noté, ces résultats indiquent clairement la présence des moisissures dites de stockage à des taux élevés.

La dominance du genre *Aspergillus* dans les denrées stockées dans les régions à climats chaud (le cas de notre région) est très connue (**Pitt et Hocking, 1997**). L'*Aspergillus* est un champignon ubiquitaire capable de coloniser divers substrats et possède une grande capacité de sporulation (**Gourama et Bullerman, 1995**) et il est par conséquent très répandu dans la nature et tout particulièrement dans les régions à climat chaud (**Mantle, 2002; Hocking et Pitt, 2003**).

Les moisissures isolées dans les arachides non décortiqué salé et sans sel appartiennent pour la plupart au genre *Aspergillus* (83,16%) et (88,17%) respectivement, notamment *A. Flavus*. De nombreux auteurs soulignent la dominance de cette section dans les arachides (**Novas and Cabral, 2002 ; Passoneet al., 2008**). Tandis que les arachides décortiquées sont beaucoup plus contaminées par le genre *Penicillium* (de 60,06% à 63,51%) qu'*Aspergillus* ; cette prévalence peut être due à une forte exposition de ce genre fongique aux dépens des autres moisissures lors de l'épluchage et le stockage.

Nos resultants sont en accord avec ceux rapportés dans la bibliographie et qui signalent la dominance d'*A.flavus* dans les arachides (**Pitt et al., 1993**). *L'Aspergillus flavus* est très répandue dans les climats chauds et occupe des niches écologiques très diverses (**Wilson et al., 2002**). Cette espèce vit dans le sol à l'état saprophyte mais est capable de provoquer le pourrissement des grains (**Horn et Dorner, 1998**).

Nos observations sont en accord avec les études précédentes de **Ruadrew et al., 2013** indiquant la dominance des genres *Aspergillus spp* et *Penicillium spp* dans les arachides. Des résultats similaires ont été rapportés par **Guezlane-Tebibelet al., 2013** au cours d'une étude réalisée sur la flore fongique produite dans les cacahuètes commercialisées en Algérie. Autres résultats similaires rapportés par **Ait mimoune-Noura., 2018** au cours d'une étude de la contamination de quelques fruit secs par *Aspergillus flavus*.

La dominance interne et externe des *Aspergillus* dans notre travail est en accord avec l'étude de **Bendjeklil et Ghribi, 2006**.

Dans un autre travail mené à Tlemcen par **Gherras et Elhimer., 2017** sur l'identification des souches fongiques toxigènes isolée des amandes et arachides ont montré une dominance des *Mucorales* suivi par les espèces d'*A.Niger* ce qui ne concorde pas avec les résultats de notre travail, cette différence peut être expliqué par le type d'échantillons, la durée de stockage, l'originedes grains oléagineux et la période de prélèvement.

En comparant avec les études de **Atayde et al., 2012.**, le taux de contamination de *Fusarium* et *Aspergillus* est élevé, par contre dans les échantillons de sol, le genre *Penicillium* était le plus dominant.

Selon Gonzalez **et al., 2008**, les genres des *Penicillium* et *Fusarium* sont les prédominants dans la contamination des arachides

Dans notre cas, l'absence de contamination par le genre *Fusarium*, cela indique que ces échantillons n'étaient pas fraîchement récoltés. L'absence des *Fusarium* et la prolifération des *Aspergillus* est le signe d'une longue durée de stockage.

Au cours du stockage, une baisse de la fréquence des *Fusarium spp.* Une augmentation de *Penicillium* et *Aspergillus* est observée dans les arachides (**Zorzete et al., 2013**).

Nos résultats confirment le statut de la flore de stockage de deux genres (*Aspergillus* et *Penicillium*) qui tendent à contaminer les denrées alimentaires pendant le stockage. Contrairement aux champignons de champ : *altrnaria*, *fusarium*, *rhizopus* qui exigent une forte humidité. La contamination des denrées alimentaires par les moisissures peut survenir tout au long de la filière de production, stockage, transport, transformation et conditionnement (**Doré et al, 2002**).

Les analyses mycologiques ont montré la dominance du genre *Aspergillus flavus* dans tous les échantillons d'arachides. Au total, 96 isolats fongiques ont été isolés et testés pour le pouvoir producteur d'AFs. Le but de cette étude est d'évaluer l'incidence des isolats aflatoxinogènes dans les échantillons analysés ce qui permet d'estimer la qualité de ces produits en termes de risque d'AFs.

L'étude mycotoxicologique a consisté en une extraction des mycotoxines qui s'est faite à partir des substrats d'arachide et à partir des isolats fongiques obtenus. La culture a été faite sur milieu solide CAM. La séparation des extraits a été effectuée par la méthode de chromatographie sur couche mince. Les résultats ont montré plusieurs taches séparées avec des rapports frontaux différents. Certaines d'entre elles se sont avérées fluorescentes sous UV à 365nm.

Dans notre travail les 03 échantillons d'arachides décortiquées sans sel (sans enveloppe) sont les plus contaminés par les AFs. La contamination par les aflatoxines des arachides et d'autre fruits à coque a été rapportée par plusieurs auteurs de différents pays (**Logrieco et al., 2003 ; Juan et al., 2008 ; Pitt et Hocking, 1997**).

Une étude par Ait Mimoune, 2018 a indiquée une contamination plus faible des arachides à coque, cependant, des taux élevés en aflatoxines ont été observés. De nombreux échantillons (105) ont été contaminés avec des teneurs en aflatoxines totales comprise entre 53,3% et 80%.

Dans une autre enquête, Matmoura, 2010 a étudié la présence des aflatoxines dans les arachides et les fruits secs commercialisés en Algérie. L'aflatoxine total a été varié de 0,34

à 25,52 µg/kg pour les cacahuètes décortiquées et de 0,17 à 0,85 µg/kg dans les cacahuètes non décortiquées. Dans leur étude, 02 échantillons étaient impropres à la consommation humaine et ont présenté des concentrations supérieures à la limite maximale autorisée à l'Algérie, fixée à 10µg/kg pour la somme des aflatoxines.

Toutes ces isolats aflatoxinogènes isolées sont capables de produire des mycotoxines sur les denrées alimentaires si les conditions sont favorables (**LeBars et LeBars, 2000**). Or, selon (**la FAO 2003**), l'élimination complète des mycotoxines dans les produits alimentaires s'avère quasi-impossible en raison de leur stabilité thermique (**Boli et al, 2018**).

**Conclusion générale et
perspectives**

Conclusion générale et perspectives

Les mycotoxines sont définies comme des substances d'origine fongique capables à faibles concentrations d'induire un effet toxique. Ils représentent un réel problème sanitaire à l'échelle mondiale en raison de leurs effets néfastes sur la santé. Ces toxines se retrouvent à l'état de contaminants naturels dans de nombreuses denrées d'origine végétale, notamment les arachides.

Le présent travail est une contribution à l'étude mycologique et recherche des souches toxigènes isolées à partir d'arachide commercialisés dans la wilaya de Batna, cette étude dévoile la présence d'une grande biodiversité de contaminants fongiques.

Les résultats montrent que les arachides salé (non décortiquée salé (17,77%) et avec enveloppe salé (7,40%)) sont les moins contaminées par les moisissures, tandis que les arachides sans sel sont fortement contaminées (non décortiquée sans sel (25,18%) et les arachides décortiquées avec enveloppe (54,81%) et sans enveloppe (68,88%)).

Au cours de cette étude, les résultats de l'énumération ont montré que les arachides sont fortement contaminées par les moisissures dont les genres *Aspergillus* (57,14%) et *Penicillium* (40,4%) sont les plus dominants. Nous avons également noté la dominance du genre *Aspergillus* dont les espèces apparentant à *Aspergillus* section *Flavi* (37,47%) et *Nigri* (18,26%) sont les prédominantes.

L'incidence élevée des moisissures de stockage comme *Aspergillus*, *Penicillium* est due au fait que les échantillons ne sont pas fraîchement récoltés.

Par ailleurs, la mise en évidence du pouvoir producteur d'AFs par détection de la fluorescence sur milieu de culture à base de noix de coco (CAM) et la détection par CCM, a permis de montrer que 38,54% et 41,66%, des isolats appartenant à *Aspergillus* section *Flavi* produisent l'aflatoxine, respectivement sur milieu CAM et sur CCM. La dominance d'*A.flavus* dans les aliments a été signalée par de nombreux auteurs.

Enfin, nous pouvons dire que cette étude a montré une fois de plus que les aliments en générale et les arachides spécialement destinée à la consommation ne sont pas dépourvues des mycotoxines. Il serait intéressant, en perspective :

- d'étendre l'étude sur un grand nombre d'échantillons
- d'effectuer l'identification moléculaire de souches obtenues.
- de faire l'étude mycotoxicologique des souches considérées les plus mycotoxinogène, à savoir *Aspergillus Niger*, *Aspergillus Flavus* et *Penicillium*.

-d'effectuer d'autres études plus approfondies et élargies sur tout le territoire national.

- L'élargissement de notre recherche sur les mycotoxines vers d'autres aliments afin d'avoir plus d'informations sur l'état hygiénique de ces denrées alimentaires.

- de faire des études pour améliorer les méthodes de traitement qui permettent la décontamination des aliments.

- d'introduire les analyses mycotoxicologiques, comme paramètre d'analyse permanent et de routine à l'échelle national.

Comme recommandations on peut citer :

- Il est recommandé de respecter les règles au moment de la récolte, du stockage et du transport des aliments.

- La sensibilisation des gens au danger des moisissures qui affectent les fruits et légumes et les mycotoxines qu'elles peuvent produire.

- La nécessité de sensibiliser les gens de l'abstention à consommer les aliments clairement infectés par les moisissures et à ne pas consommer la partie saine et laisser la partie pourrie de l'aliment en croyant que la partie saine ne contient pas la mycotoxine.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- A, El Khoury. (2007).** *Champignons Mycotoxinogènes et Ochratoxine A (OTA) et Aflatoxine B1 (AFB1) dans les vignobles libanais : Occurrence et Origine* (Doctoral dissertation).
- A.O.A.C. (2000).** *Association of Official Analytical Chemists*. 17th end, 2000 chapitre 49, subchapter 1 Mycotoxins /subchapter 2 aflatoxins.
- Abarca, M. L., Bragulat, M. R., Castella, G., & Cabanes, F. (1994).** Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. *Applied and environmental microbiology*, 60(7), 2650-2652.
- Abdoul Habou Z. (2003).** *Effets de la qualité de semences sur la production de l'arachide du Sénégal*. Mémoire pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur Agronome. Sénégal. ENSA. 59 p...
- Adams, M. R., & Moss, M. O. (2002).** Toxinogenic fungi. *Food microbiology*". RSC, UK, 282-301.
- AFSSA. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (2009).** Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. *Rapport final*, 1-308.
- Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., & Varzakas, T. (2020).** Advances in occurrence, importance, and mycotoxin control strategies: Prevention and detoxification in foods. *Foods*, 9(2), 137.
- Ah-Leung, S., Bernard, H., Drumare, M. F., Mondoulet, L., Paty, E., Scheinmann, P., .., & Wal, J. M. (2003).** Influence des procédés thermiques sur l'allergénicité de l'arachide. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 43(8), 486-491.
- Ait Mimoune, N. (2018).** *Etude de la contamination par les espèces d'Aspergillus section flavi et par les aflatoxines de quelques fruits secs utilisés en confiserie*. Ecole National Supérieure de Kouba-Alger. Docteur en sciences Biologiques. Option Microbiologie. 155 p.
- Albert, C. M., Gaziano, J. M., Willett, W. C., & Manson, J. E. (2002).** Nut consumption and decreased risk of sudden cardiac death in the Physicians' Health Study. *Archives of internal medicine*, 162(12), 1382-1387.
- Amare, M. G., & Keller, N. P. (2014).** Molecular mechanisms of *Aspergillus flavus* secondary metabolism and development. *Fungal Genetics and Biology*, 66, 11-18.
- Anonyme. (2003).** *Production et stockage des graines et gains et produits dérivés*. Tome 1. 576 p.

- Arnaud, C. (2014).** *Identification des moisissures*. Technologie/Process. La Vague (42) ,10-12. Eurofins/Dmyk. Arnaud.carlotti @idmyk.com.
<http://www.sciencesetavenir.fr/nutrition/video-la-chronique-de-camille-pouquoi-le-sel-conserve-t-il-les-aliments>.
- Atayde, D. D., Reis, T. A., Godoy, I. J., Zorzete, P., Reis, G. M., & Corrêa, B. (2012).** Mycobiota and aflatoxins in a peanut variety grown in different regions in the state of São Paulo, Brazil. *Crop Protection*, 33, 7-12.
- Atongbiik, A., Achaglinkame, M. A., Opoku, N., & Amagloh, F. K. (2017).** Aflatoxin contamination in cereals and legumes to reconsider usage as complementary food ingredients for Ghanaian infants: A review. *Journal of nutrition & intermediary metabolism*, 10, 1-7.
- Atongbiik, A., Achaglinkame, M. A., Opoku, N., & Amagloh, F. K. (2017).** Aflatoxin contamination in cereals and legumes to reconsider usage as complementary food ingredients for Ghanaian infants: A review. *Journal of nutrition & intermediary metabolism*, 10, 1-7.
- Azzoune, N. (2010).** *Etude des populations du genre Aspergillus et de leur mycotoxines isolée des épices et des légumes secs*. Option : Biochimie et Microbiologie Appliquée.
- Badillet, G., De Bièvre, C., & Guého, É. (1994).** *Champignons contaminants des cultures; Champignons opportunistes: atlas clinique et biologique*. Varia.
- Bailly, J. D., & Guerre, P. (2009).** Mycotoxins in meat and processed meat products. *Safety of meat and processed meat*, 83-124.
- 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
- Baranyi, N., Kocsubé, S., & Varga, J. (2015).** Aflatoxins: Climate change and biodegradation. *Current opinion in food science*, 5, 60-66.
- Batt, C., Solberg, M., & Ceponis, M. (1983).** Effect of volatile components of carrot seed oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Journal of Food Science*, 48(3), 762-764.
- Bayman, P., & Cotty, P. J. (1991).** Vegetative compatibility and genetic diversity in the *Aspergillus flavus* population of a single field. *Canadian Journal of Botany*, 69(8), 1707-1711.

- Bbosa, G. S., Kitya, D., Odda, J., & Ogwal-Okeng, J. (2013).** Aflatoxins metabolism, effects on epigenetic mechanisms and their role in carcinogenesis.
- Bendjeklil, S., Ghribi, R. (2006).** *Etude de la contamination de l'arachide de bouche locale par les moisissures aflatoxinogènes et ochratoxinogènes et la caractérisation biologique des isolats collectés.* Thèse : Ing.D'état Agro. Blida.
- Berthier, J., & Valla, G. (2009).** Moisissures-mycotoxines et aliments: du risque à la prévention.[En ligne]. Disponible sur: <http://handy.univlyon1.fr/service/cours/mycot/mycot.html> (consulté le 18.06. 2009).
- Bhat, R., Rai, R. V., & Karim, A. A. (2010).** Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9(1), 57-81.
- Bhatnagar, D., Yu, J., Ehrlich, K.C. (2002).** *Toxins in filamentous fungi.*In : Breitenbach M, Cramer R, Lehrer SB (Eds). *Fungal Allergy and Pathogenicity.* Chem. Immunol. Basel. Karger (81), 167- 206.
- Binder, E. M., & Krska, R. (Eds.). (2012).** *Romer labs guide to mycotoxins.*
- Blackwell, B. A., Miller, J. D., & Savard, M. E. (1994).** Production of carbon 14-labeled fumonisin in liquid culture. *Journal of AOAC International*, 77(2), 506-511.
- Blumenthal, C. Z. (2004).** Production of toxic metabolites in *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, and *Trichoderma reesei*: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 39(2), 214-228.
- Boiron, P., & Périlleux, E. (1996).** *Organisation et biologie des champignons.* Nathan.
- Boli, Z. B. I. A., Camara, F., Toka, D. M., Koussemon, M., & Koffi-Nevry, R. (2018).** Validation de la méthode de détermination d'aflatoxine B1 dans les pâtes d'arachide vendues sur les marchés de la ville d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(2), 796-803.
- Botton, B., A. Breton, & Fèvre, M. (1990).** *Moisissures utiles et nuisibles: importance industrielle* (p. 426). Paris: Masson .
- Botton, B., Breton, A., Fèvre, M., Gauthier, S., Guy, P.H., Larpent, J.P., Reymond Sanglier, J.J., Vayssier, Y & Veau, P. (1990).** *Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle*, 2^eEd .Masson (Paris). (P.442).
- Bouchet, P., Guignard, J. L., Pouchus, Y. F., & Villard, J. (2005).** *Les champignons: mycologie fondamentale et appliquée.* Elsevier Masson.

- Buoraima, Y., Ayi-Fanou, L., Kora, I., Sanni, A., & Creppy, E. E. (1993).** Mise en évidence de la contamination des céréales par les aflatoxines et l'ochratoxine A au Bénin. *Human ochratoxicosis and its pathologies*, 231, 101-110.
- Bourgeois, C. M., Mescle, J. F., & Zucca, J. (1989).** *Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments*. Lavoisier. Paris.(1), 216-244.
- Bouseta, A., Bouya, D., Benzekri, A., & Collin, S. (2005).** Influence de l'activité de l'eau, de la température et du temps d'incubation sur le croissancement et la production de déoxynivalénol par des isolats de *Fusarium culmorum*.
- 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.
- Briend, A. (2001).** Highly nutrient-dense spreads: a new approach to delivering multiple micronutrients to high-risk groups. *British Journal of Nutrition*, 85(S2), S175-S179.
- Brochard, G., & Le Bacle, C. (2009).** Mycotoxines en milieu de travail. *Origine et Propriétés Toxiques des Principales Mycotoxines*. INRS, Documents pour le Médecin Du Travail, 119.
- Bullerman, L. B., & Bianchini, A. (2007).** Stability of mycotoxins during food processing. *International journal of food microbiology*, 119(1-2), 140-146.
- Cahagnier, B., Dragaci, S., Frayssinet, C., Frémy, J.M., Hennebert, G.L., Lesage-meessen, L., Multon, J.L., Richard-Molard, D., & Roquebert, M.F. (1998).** *Moisissures des aliments peu hydratés*. Lavoisier TEC et Doc. France, (225 p).
- Cairns-Fuller, V., Aldred, D., & Magan, N. (2005).** Water, temperature and gas composition interactions affect growth and ochratoxin A production by isolates of *Penicillium verrucosum* on wheat grain. *Journal of applied microbiology*, 99(5), 1215-1221.
- Calvo, A. M., Bok, J., Brooks, W., & Keller, N. P. (2004).** veA is required for toxin and sclerotial production in *Aspergillus parasiticus*. *Applied and environmental microbiology*, 70(8), 4733-4739.
- Campagnollo, F. B., Ganey, K. C., Khaneghah, A. M., Portela, J. B., Cruz, A. G., Granato, D., ... & Sant'Ana, A. S. (2016).** The occurrence and effect of unit operations for dairy products processing on the fate of aflatoxin M1: A review. *Food control*, 68, 310-329.
- Campbell, C. (1996).** Identification of Pathogenic Fungi Public Health Laboratory Service. London: Autor.

- Cast (Concil for Agricultural Science and Technology).**(1989). *Castagnero (M) – Risques cancérogènes*, In : *Pfohl-Leszkowicz A(Ed) les mycotoxines dans l'alimentation, Evaluation et gestion du risque*, Tec et Doc. Lavoisier, Londers, Paris, New York, 121- 140.
- Castegnaro, M., & Pfohl-Leszkowicz, A. (2002).** Les mycotoxines: contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine. *La sécurité alimentaire du consommateur*,2, 127-79.
- CDC. (2004).** Centres for Disease Control and Prevention. *Outbreak of aflatoxins poisoning eastern and central provinces. Kenya. MMWR (Morbidity and Mortality Weekly Report) 3*,790-793.
- Chabasse, D., Bouchara, J.P., Gentile, L., Brun, S., & Simon, B .(2002).** *les moisissures d'intérêt médical*. Cahier de formation biologie médicale, (25) 296 – 303.
- Champion, R. (1997).** Identifier les champignons transmis par les semences. *Identifier les champignons transmis par les semences*, 1-400.
- Chang, P. K., Bennett, J. W., & Cotty, P. J. (2002).** Association of aflatoxin biosynthesis and sclerotial development in *Aspergillus parasiticus*. *Mycopathologia*, 153, 41-48.
- Chang, P. K., & Ehrlich, K. C. (2010).** What does genetic diversity of *Aspergillus flavus* tell us about *Aspergillus oryzae*? *International journal of food microbiology*, 138(3), 189-199.
- Chang, P. K., Ehrlich, K. C., & Hua, S. S. T. (2006).** Cladal relatedness among *Aspergillus oryzae* isolates and *Aspergillus flavus* S and L morphotype isolates. *International Journal of Food Microbiology*, 108(2), 172-177.
- Chapeland-Leclerc, F., Papon, N., Noël, T., & Villard, J. (2005).** Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicoses). *Revue francophone des laboratoires*, 2005(373), 61-66.
- Chermette, R., & Bussiéras, R. (1993). *Mycologie vétérinaire*. Service de parasitologie, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort..
- Clement, J. M. (1981).** Larousse agricole>> Librairie Larousse Paris p1208.
- Cocolin, L., Aggio, D., Manzano, M., Cantoni, C., & Comi, G. (2002).** An application of PCR-DGGE analysis to profile the yeast populations in raw milk. *International Dairy Journal*, 12(5), 407-411.
- Coelho, J. P., Veiga, J. G., Elvas-Leitão, R., Brigas, A. F., Dias, A. M., & Oliveira, M. C. (2017, February).** Composition and in vitro antioxidants activity of *Chamaerops humilis* L. In *2017 IEEE 5th Portuguese Meeting on Bioengineering (ENBENG)*(pp. 1-4). Ieee.

- Cotty, P. J. (1989).** Virulence and cultural characteristics of two *Aspergillus flavus* strains pathogenic on cotton. *Phytopathology*, 79(7), 808-814.
- Creppy, E. E., Baudrimont, I., & Betbeder, A. M. (1995).** Prevention of nephrotoxicity of ochratoxin A, a food contaminant. *Toxicology letters*, 82, 869-877.
- D'Halewyn, M.A., Leclerc, J.M. , King, N., Bélanger, M., Legris, M., & Frenette, M. (2002).** *Les risques de la santé associés à la présence de moisissures en milieu intérieur.* In : *Poulin M (Ed).* Institut National de la Santé Publique du Québec. *INSPQ , Québec. 1 – 16.*
- D'Mello Mc ,Donald AMC. 1997.** Mycotoxine Animal Feed Science Technology. 60: 155-166.
- Davet, P. (1996).** *Vie microbienne du sol et production végétale.* Editions Quae.
- Davis, N. D., Iyer, S. K., & Diener, U. (1987).** Improved method of screening for aflatoxin with a coconut agar medium. *Applied and environmental microbiology*, 53(7), 1593-1595.
- DebbabieAH etShafchak SD. 2008.** Production des produits du champ.Edition Dar El Fekre El Arabie. Egypte. 594 p..
- Delage, N., d'Harlingue, A., Ceccaldi, B. C., & Bompeix, G. (2003).** Occurrence of mycotoxins in fruit juices and wine. *Food Control*, 14(4), 225-227.
- Diener, U. L., Cole, R. J., Sanders, T. H., Payne, G. A., Lee, L. S., & Klich, M. A. (1987).** Epidemiology of aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*. *Annual review of phytopathology*, 25(1), 249-270.
- Diener, U. L., & Davis, N. D. (1967).** Limiting temperature and relative humidity for growth and production of aflatoxin and free fatty acids by *Aspergillus flavus* in sterile peanuts. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 44(4), 259-263.
- Dix, N. J., Webster, J., Dix, N. J., & Webster, J. (1995).** Structure of fungal communities. *Fungal ecology*, 39-84.
- Djossou, O., Perraud-Gaime, I., Mirleau, F. L., Rodriguez-Serrano, G., Karou, G., Niamke, S., ... & Roussos, S. (2011).** Robusta coffee beans post-harvest microflora: *Lactobacillus plantarum* sp. as potential antagonist of *Aspergillus carbonarius*. *Anaerobe*, 17(6), 267-272.
- Domsch, K. H., Gams, W., & Anderson, T. H. (1980).** *Compendium of soil fungi. Volume 1.* Academic Press (London) Ltd..
- Doré, T., Le Bail, M., & Verger, P. (2002).** Pratiques agricoles et sécurité sanitaire des aliments en production végétale. *Cahiers Agricultures*, 11(3), 177-185.

- Dunoyer, C. (1989).** *Principes de microbiologie en industries cerealieres* (No. 89-099065. CIMMYT.).
- Dwivedi, S. L., Crouch, J. H., Nigam, S. N., Ferguson, M. E., & Paterson, A. H. (2003).** Molecular breeding of groundnut for enhanced productivity and food security in the semi-arid tropics: opportunities and challenges. *Advances in agronomy*, 80, 153-221.
- Eivazzadeh-Keihan, R., Pashazadeh, P., Hejazi, M., de la Guardia, M., & Mokhtarzadeh, A. (2017).** Recent advances in nanomaterial-mediated bio and immune sensors for detection of aflatoxin in food products. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 87, 112-128.
- El Assaoui, M. (2018).** *Contamination des aliments par les mycotoxines: Méthodes de prévention, de lutte et de décontamination.* (Thèse). <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/handle/123456789/16443>.
- El Mahgubi, A., Puel, O., Bailly, S., Tadriss, S., Querin, A., Ouadia, A., ... & Bailly, J. D. (2013).** Distribution and toxigenicity of *Aspergillus* section *Flavi* in spices marketed in Morocco. *Food Control*, 32(1), 143-148.
- Elidemir, O., Colasurdo, G. N., Rossmann, S. N., & Fan, L. L. (1999).** Isolation of *Stachybotrys* from the lung of a child with pulmonary hemosiderosis. *Pediatrics*, 104(4), 964-966.
- El Khoury, A., Atoui, A., Rizk, T., Lteif, R., Kallassy, M., & Lebrihi, A. (2011).** Differentiation between *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* from pure culture and aflatoxin-contaminated grapes using PCR-RFLP analysis of aflR-aflJ intergenic spacer. *Journal of food science*, 76(4), M247-M253.
- Elzupir, A. O., Abas, A. R. A., Fadul, M. H., Modwi, A. K., Ali, N. M., Jadian, A. F., ... & Khalil, E. A. (2012).** Aflatoxin M1 in breast milk of nursing Sudanese mothers. *Mycotoxin Research*, 28(2), 131-134
- Esteban, A., Abarca, M. L., Bragulat, M. R., & Cabañes, F. J. (2004).** Effects of temperature and incubation time on production of ochratoxin A by black aspergilli. *Research in Microbiology*, 155(10), 861-866.
- European Commission, E. (2006).** Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Off. J. Eur. Union*, 364, 5-24.
- F A O. (1992).** *Normes sur le contrôle de la qualité des produits alimentaires.* Cours de formation sur l'analyse des mycotoxines. Etude FAO 14/10 Rome. (143p).

- FAO. (2003).** *Reglementations relatives aux mycotoxines dans les produits d'alimentation humain et animale, à l'échelle mondiale*. Etude FAO alimentation et nutrition. 1014-2008.
- FAO. (2004).** *Food and Agriculture Organization of the United Nations Worldwide Regulations for Mycotoxins in Food and Feed*. FAO food and nutrition paper, N° 81, Rome.
- FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2008).** *Statistics Food. Production data*. Available online at: <http://faostat.fao.org>
- Farrar, J. J., & Davis, R. M. (1991).** Relationships among ear morphology, western flower thrips, and Fusarium ear rot of corn. *Phytopathology*, 81(6), 661-666.
- Fente, C. A., Ordaz, J. J., Vazquez, B. I., Franco, C. M., & Cepeda, A. (2001).** New additive for culture media for rapid identification of aflatoxin-producing *Aspergillus* strains. *Applied and environmental microbiology*, 67(10), 4858-4862.
- Ferguson, M. E., Jarvis, A., Stalker, H. T., Williams, D. E., Guarino, L., Valls, J. F., ... & Bramel, P. J. (2005).** Biogeography of wild *Arachis* (Leguminosae): distribution and environmental characterisation. *Biodiversity & Conservation*, 14, 1777-1798.
- Filali, A., Ouammi, L., Betbeder, A. M., Baudrimont, I., Soulaymani, R., Benayada, A., & Creppy, E. E. (2001).** Ochratoxin A in beverages from Morocco: a preliminary survey. *Food Additives & Contaminants*, 18(6), 565-568.
- Fitzgerald, Collin, & Towers. (1998).** Biological control of sporidesmin-producing strains of *Pithomyces chartarum* by biocompetitive exclusion. *Letters in applied microbiology*, 26(1), 17-21.
- Foncéka, D. (2010).** *Elargissement de la base génétique de l'arachide cultivée (Arachis hypogaea): Applications pour la construction de populations, l'identification de QTL et l'amélioration de l'espèce cultivée* (Doctoral dissertation, Montpellier SupAgro).
- Fox, E.M., & Howlett, B.J. (2008).** *Secondary metabolism: regulation and role n fungal biology*. *Current Opinion in Microbioloy*.(11) : 481 – 487.
- Fraser, G. E. (2000).** Nut consumption, lipids, and risk of a coronary event. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 9(S1), S28-S32.
- Frisvad, J. C., Samson, R. A., & Smedsgaard, J. (2004).** *Emericella astellata*, a new producer of aflatoxin B1, B2 and sterigmatocystin. *Letters in applied microbiology*, 38(5), 440-445.
- Frisvad, J. C., & Samson, R. A. (2004).** *Emericella venezuelensis*, a new species with stellate ascospores producing sterigmatocystin and aflatoxin B1. *Systematic and applied microbiology*, 27(6), 672-680.

- Gabal, M. A., Hegazi, S. A., & Hassanin, N. (1994).** Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* field isolates. *Veterinary and Human Toxicology*, 36(6), 519-521.
- GACEM, M. A. (2011).** *Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de Citrullus colocynthis sur la croissance de quelque moisissure d'altération de blé tendre stocké* (Doctoral dissertation).
- Galloti, S., Jean, M.F., & Carole T. (2006).** *Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Rapport synthétique.* AFSSA. France.(P.82).
- Galtier, P., Loiseau, N., Oswald, I. P., & Puel, O. (2006).** Toxicologie des mycotoxines: dangers et risques en alimentation humaine et animale. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*, 159(1), 5-13.
- Garcia, D., Ramos, A. J., Sanchis, V., & Marín, S. (2011).** Modelling the effect of temperature and water activity in the growth boundaries of *Aspergillus ochraceus* and *Aspergillus parasiticus*. *Food microbiology*, 28(3), 406-417.
- Gardiner, D. M., Osborne, S., Kazan, K., & Manners, J. M. (2009).** Low pH regulates the production of deoxynivalenol by *Fusarium graminearum*. *Microbiology*, 155(9), 3149-3156.
- Gaubert, C. (2021).** *Pourquoi le sel conserve-t-il les aliment? Science et avenir.* France.
- Gautier, M., Normand, A. C., & Ranque, S. (2016).** Previously unknown species of *Aspergillus*. *Clinical Microbiology and Infection*, 22(8), 662-669.
- Gelderblom, W. C. A., Marasas, W. F. O., Lebepe-Mazur, S., Swanevelder, S., Vessey, C. J., & De la M Hall, P. (2002).** Interaction of fumonisin B1 and aflatoxin B1 in a short-term carcinogenesis model in rat liver. *Toxicology*, 171(2-3), 161-173.
- Gélinas, P. (1995).** *Répertoire des microorganismes pathogènes transmis par les aliments.* Edisem.
- Gherras, S., & Elhimer, N. (2017).** *Etude mycologique et identification des souches fongique toxinogènes isolée des amandes et arachides – tlm.* Département de biologie Tlemcen. *Diplome de Master en Toxicologie industrielle et environnemental.*
- Gillier, P. (1969).** *L'arachide, maisonneuve et Larose. Agroalimentataires, Ecole Polytechnique Fédérale Lausanne, Paris, 2000 ; Journal of Clinical Nutrition (9) S28 - S32.*

- Giorni, P., Battilani, P., Pietri, A., & Magan, N. (2008).** Effect of aw and CO₂ level on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production in high moisture maize post-harvest. *International Journal of Food Microbiology*, 122(1-2), 109-113.
- Giorni, P. A. O. L. A., Magan, N., Pietri, A. M. E. D. E. O., Bertuzzi, T., & Battilani, P. (2007).** Studies on *Aspergillus* section *Flavi* isolated from maize in northern Italy. *International journal of food microbiology*, 113(3), 330-338.
- Giorni, P. A. O. L. A., Magan, N., Pietri, A. M. E. D. E. O., Bertuzzi, T., & Battilani, P. (2007).** Studies on *Aspergillus* section *Flavi* isolated from maize in northern Italy. *International journal of food microbiology*, 113(3), 330-338.
- Gonçalez, E., Nogueira, J. H., Fonseca, H., Felicio, J. D., Pino, F. A., & Corrêa, B. (2008).** Mycobiota and mycotoxins in Brazilian peanut kernels from sowing to harvest. *International Journal of Food Microbiology*, 123(3), 184-190.
- Gourama, H., & Bullerman, L. B. (1995).** *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*: Aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds: A review. *Journal of Food protection*, 58(12), 1395-1404.
- Guarro, J., Gené, J., & Stchigel, A. M. (1999).** Developments in fungal taxonomy. *Clinical microbiology reviews*, 12(3), 454-500.
- Guezlane-Tebibel, N., Bouras, N., Mokrane, S., Benayad, T., & Mathieu, F. (2013).** Aflatoxigenic strains of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from marketed peanuts (*Arachis hypogaea*) in Algiers (Algeria). *Annals of Microbiology*, 63(1), 295-305.
- Guezlane-Tebibel, N., Bouras, N., Mokrane, S., Benayad, T., & Mathieu, F. (2013).** Aflatoxigenic strains of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from marketed peanuts (*Arachis hypogaea*) in Algiers (Algeria). *Annals of Microbiology*, 63(1), 295-305.
- Guezlane-Tebibel, N., Bouras, N., & Old Elhadj, M.D. (2016).** *Les mycotoxines : un danger de santé public*. *Algerienn Journal of Arid Environnement*, 6(1), 32-49.
- Guezlane-Tebibel, N., Bouras, N., Mokrane, S., Benayad, T., & Mathieu, F. (2012).** Aflatoxigenic strains of *Aspergillus* section *flavi* isolated from marketed peanuts in Algiers (Algeria). *Ann. Microbiol.*, (62), 1-11.
- Guiraud, J.P. Microbiologie alimentaire. Paris : Dunod. (1998).** Chapitre, Milieu et réactif.p :522.ISBN :210 003666 1.
- Hamid, A.S., Tesfamariam, I.G., Zhang, Y., & Zhang, Z.G.(2013).** Aflatoxin B₁ induced hepatocellular carcinoma in developing country: Geographical Distribution, mechanism of action and prevention (Review). *Oncology Letters*, (5), 1087-1092.

Microbial pathogenesis, 142, 104095.

Haque, M. A., Wang, Y., Shen, Z., Li, X., Saleemi, M. K., & He, C. (2020). Mycotoxin contamination and control strategy in human, domestic animal and poultry: A review. *Microbial pathogenesis*, 142, 104095.

Hedayati, M. T., Pasqualotto, A. C., Warn, P. A., Bowyer, P., & Denning, D. W. (2007). *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology*, 153(6), 1677-1692.

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

Hocking, A.D., & Pitt, J.I. (2003). *Mycotoxigenic fungi*, In: Hocking A.D. (Ed), *Foodborne micro-organisms of public health significance*, 6th Ed. Australian Institute, Sydney.

Hocking, A.D. (2006). *Aspergillus and related teleomorphs*. *Food Science Australia*. Woodhead Publishing 451-487.

Horie, Y., (1995). Productivity of ochratoxin A of *Aspergillus carbonarius* in *Aspergillus* section *Nigri*, *Nippon Kingakukaiho* (36) 73-76.

Horn, B.W., & Dorner, J.W. (1998). Soil populations of *Aspergillus* species from section *Flavi* along a transect through peanutgrowing regions of the United States. *Mycologia*, (90)767-776.

Horn, B.W., Greene, R.L., Sobolev, V.S., Dorner, J.W., Powell, J.H., & Layton, R.C. (1996). Association of morphology and mycotoxin production with vegetative compatibility groups in *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, and *A. tamarii*. *Mycologia*, 88(4), 574 – 587.

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

HUBERT, P. (2000). Fiche technique d'agriculture spéciale.

Huwig, A., Freimund, S., Käppeli, O., & Dutler, H. (2001). Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicology letters*, 122(2), 179-188.

Hymery, N., Vasseur, V., Coton, M., Mounier, J., Jany, J. L., Barbier, G., & Coton, E. (2014). Filamentous fungi and mycotoxins in cheese: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 437-456.

IARC, International Agency for Research on cancer. (1993). *Aflatoxins, Some naturally occurring substances : Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins*. IARC monograph on the evaluation of carcinogenic risks to humans, IARC, Lyon, France : *World Health Organisation* (56,) 245-395.

- IARC. (1971).** *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans.* Some naturally occurring substances, Some food items and constituents heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Lyon. Vol (56), 362.
- IARC. (1976).** *Evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man.* Some naturally occurring substances. International Agency For Research on Cancer. Lyon..
- IARC. (2002).** *Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene.* Summary of data reported and evaluation. IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk to humans. Vol (.82). International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
- IBRA Fall . (1988).** *L'arachide, grand prix du président de la république pour les sciences et les technologies.* (300 p).
- Ji, C., Fan, Y., & Zhao, L. (2016).** Review on biological degradation of mycotoxins. *Animal nutrition*, 2(3), 127-133.
- Jouany, J. P., Yiannikouris, A., & Bertin, G. (2009).** Risk assessment of mycotoxins in ruminants and ruminant products. *Options méditerranéennes, A*, 85, 205-224.
- Journal officiel de l'Union Européenne. (2006).** Fixation des teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires. Règlement (CE) No 1881/2006, 19 décembre 2006 n° L 364/13..
- Juan, C., Zinedine, A., Molto, J. C., Idrissi, L., & Manes, J. (2008).** Aflatoxins levels in dried fruits and nuts from Rabat-Salé area, Morocco. *Food Control*, 19(9), 849-853.
- Kaaya, N. A., & Warren, H. L. (2005).** Review of past and present research on Aflatoxin in Uganda. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 5(1).
- Kader, A.A., & Hussein, A.M. (2009).** *Harvesting and postharvest handling of dates.* ICARDA, Aleppo, Syria, (15p)
- Keller, S. E., Sullivan, T. M., & Chirtel, S. (1997).** Factors affecting the growth of *Fusarium proliferatum* and the production of fumonisin B1: oxygen and pH. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 19(4), 305-309.
- Kiffer, E., & Morelet, M. (1997).** Deuteromycetes: classification and keys for identifying genera. *Deuteromycetes: classification and keys for identifying genera.*
- King Jr, 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.

- Klich, M. A. (2007).** *Aspergillus flavus*: the major producer of aflatoxin. *Molecular plant pathology*, 8(6), 713-722.
- Krapovickas, A., & Gregory, W. C. (1994).** TAXONOMIA DEL GENERO " ARACHIS (LEGUMINOSAE)". *Bonplandia*, 1-186.
- Krivobok, S. (1983).** *Contribution à l'étude des mycotoxines (aflatoxines, ochratoxines, zéaralénone et trichothécènes)* (Doctoral dissertation).
- Kurtzman, C. P., Horn, B. W., & Hesseltine, C. W. (1987).** *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamaris*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 53, 147-158.
- Lacey, J. (1986).** *Factors affecting mycotoxin production. Bioactive molecules.*
- Lahouar, A. (2016).** Mycotoxines et champignons mycotoxinogènes dans les grains de sorgho commercialisé en Tunisie: Incidence et profils écophysologiques.
- Lai, X., Zhang, H., Liu, R., & Liu, C. (2015).** Potential for aflatoxin B1 and B2 production by *Aspergillus flavus* strains isolated from rice samples. *Saudi journal of biological sciences*, 22(2), 176-180.
- Le Bars, J., & Le Bars, P. (1988).** Les moisissures des denrées alimentaires et leurs conséquences.
- Le Bars, J., & Le Bars, P. (1998).** Strategy for safe use of fungi and fungal derivatives in food processing. *Revue de Médecine Vétérinaire (France)*.
- Lewis, D. C., & Goodrich-Schneider, R. (2012, December).** Mycotoxins in fruit and fruit products. In *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* (Vol. 125, pp. 252-257).
- Lipps, P. E., & Deep, I. W. (1991).** Influence of tillage and crop rotation on yield, stalk rot, and recovery of *Fusarium* and *Trichoderma* spp. from corn. *Plant disease*, 75(8), 828-833.
- Liu, Y., & Wu, F. (2010).** Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: a risk assessment. *Environmental health perspectives*, 118(6), 818-824.
- Locquin, M. (1984).** *Mycologie générale et structurale*. Elsevier Masson.
- Logrieco, A., Bottalico, A., Mulé, G., Moretti, A., & Perrone, G. (2003).** Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. *Epidemiology of Mycotoxin Producing Fungi: Under the aegis of COST Action 835 'Agriculturally Important Toxigenic Fungi 1998–2003', EU project (QLK 1-CT-1998–01380)*, 645-667.
- Loic, Fangeat. (2008).** *Les mycotoxines chez les bovins* (Doctoral dissertation).

- Cerain, A. L. D., González-Peñas, E., Jiménez, A. M., & Bello, J. (2002).** Contribution to the study of ochratoxin A in Spanish wines. *Food Additives & Contaminants*, 19(11), 1058-1064.
- Madhyastha, S. M., Marquardt, R. R., Frohlich, A. A., Platford, G., & Abramson, D. (1990).** Effects of different cereal and oilseed substrates on the growth and production of toxins by *Aspergillus alutaceus* and *Penicillium verrucosum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(7), 1506-1510.
- Magan, N., Medina, A., & Aldred, D. (2011).** Possible climate-change effects on mycotoxin contamination of food crops pre-and postharvest. *Plant pathology*, 60(1), 150-163.
- Mahine, N. (2017).** *Etude de la contamination des produits céréaliers par les mycotoxines: Cas des aflatoxines, de l'ochratoxine A, des fumonisines et des mycotoxines émergentes* (Thèse, Université Mohammed V, Faculté des sciences-Rabat). <http://toubkal.imist.ma/handle/123456789/11312>.
- Logrieco, A., Bottalico, A., Mulé, G., Moretti, A., & Perrone, G. (2003).** Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. *Epidemiology of Mycotoxin Producing Fungi: Under the aegis of COST Action 835 'Agriculturally Important Toxigenic Fungi 1998–2003', EU project (QLK 1-CT-1998–01380)*, 645-667.
- Loic, Fangeat. (2008).** *Les mycotoxines chez les bovins* (Doctoral dissertation).
- Cerain, A. L. D., González-Peñas, E., Jiménez, A. M., & Bello, J. (2002). Contribution to the study of ochratoxin A in Spanish wines. *Food Additives & Contaminants*, 19(11), 1058-1064.
- Madhyastha, S. M., Marquardt, R. R., Frohlich, A. A., Platford, G., & Abramson, D. (1990).** Effects of different cereal and oilseed substrates on the growth and production of toxins by *Aspergillus alutaceus* and *Penicillium verrucosum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(7), 1506-1510.
- Magan, N., Medina, A., & Aldred, D. (2011).** Possible climate-change effects on mycotoxin contamination of food crops pre-and postharvest. *Plant pathology*, 60(1), 150-163.
- Manizan, A. L., Akaki, D., Piro-Metayer, I., Montet, D., Brabet, C., & Koffi-Nevry, R. (2018).** Évaluation des pratiques culturales de l'arachide favorisant la contamination par les

aflatoxines dans trois régions de Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(4), 1590-1600.

Mantle, P. G. (2002). Risk assessment and the importance of ochratoxins. *International biodeterioration & biodegradation*, 50(3-4), 143-146.

Marin, S., Ramos, A. J., Cano-Sancho, G., & Sanchis, V. (2013). Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and chemical toxicology*, 60, 218-237.

Matmoura, A., Bouti, K., Bouras, N., & Houmani, Z. (2019). RECHERCHE DES POPULATIONS D'ASPERGILLUS SECTION FLAVI AFLATOXINOGENES DANS LES AMANDES COMMERCIALISÉES DANS TROIS RÉGIONS ALGÉRIENNES. *African Review of Science, Technology and Development*, 4(01), 1-13.

MATMOURA, A. *Recherche des espèces d'aspergilles aflatoxinogènes et des aflatoxines dans les arachides et les fruits secs commercialisés* (Doctoral dissertation, Ecole normale supérieure de Kouba-Mohamed Bachir El Ibrahimi-).

Mazoyer, M. (2002). *Pourquoi est-il vital pour les agriculteurs d'ici et d'ailleurs de comprendre les agricultures du monde.*

Medina, Á., Valle-Algarra, F. M., Mateo, R., Gimeno-Adelantado, J. V., Mateo, F., & Jiménez, M. (2006). Survey of the mycobiota of Spanish malting barley and evaluation of the mycotoxin producing potential of species of *Alternaria*, *Aspergillus* and *Fusarium*. *International journal of food microbiology*, 108(2), 196-203.

Meissonnier, G. M., Oswald, I. P., & Galtier, P. (2005). Aflatoxicoses chez le porc: Étude bibliographique de données cliniques et expérimentales. *Revue de médecine vétérinaire*, 156(12), 591-605.

Miller, J. D. (1994). Mycotoxins in grain. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 36, 326-326.

Miller, J. D. (2002). Aspects of the ecology of *Fusarium* toxins in cereals. *Mycotoxins and food safety*, 19-27.

Mitchell, D., Parra, R., Aldred, D., & Magan, N. (2004). Water and temperature relations of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains from grapes in Europe and Israel. *Journal of Applied Microbiology*, 97(2), 439-445.

Molina, M., & Giannuzzi, L. (2002). Modelling of aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* in a solid medium at different temperatures, pH and propionic acid concentrations. *Food Research International*, 35(6), 585-594.

- Molto, G. A., Gonzalez, H. H. L., Resnik, S. L., & Gonzalez, A. P. (1997).** Production of trichothecenes and zearalenone by isolates of *Fusarium* spp. from Argentinian maize. *Food Additives & Contaminants*, 14(3), 263-268.
- Moreau, C. (1974).** *Moisissures toxiques dans l'alimentation*. Masson.
- Moreau, C. (1994).** Moisissures toxiques dans l'alimentation Pologne : Masson et Cie .
- Morin, O. (1994).** Aspergillus et aspergilloses: biologie, Ed. *Techniques Encycl. Med. Chir.(Elsevier, Paris), Maladies infectieuses*, 8-600.
- Morin, O. (2004).** *Aspergillus et aspergilloses : biologie, EMC- Maladies infectieuses*, 1(1), 1-7.
- Mutegi, C., Wagacha, M., Kimani, J., Otieno, G., Wanyama, R., Hell, K., & Christie, M. E. (2013).** Incidence of aflatoxin in peanuts (*Arachis hypogaea* Linnaeus) from markets in Western, Nyanza and Nairobi Provinces of Kenya and related market traits. *Journal of Stored Products Research*, 52, 118-127.
- Nemati, M., Mehran, M. A., Hamed, P. K., & Masoud, A. (2010).** A survey on the occurrence of aflatoxin M1 in milk samples in Ardabil, Iran. *Food control*, 21(7), 1022-1024.
- Neme, K., & Mohammed, A. (2017).** Mycotoxin occurrence in grains and the role of postharvest management as a mitigation strategies. A review. *Food Control*, 78, 412-425.
- Nguyen, M. T. (2007).** *Identification des espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialisé dans cinq provinces de la région centrale du Vietnam: étude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines* (Doctoral dissertation).
- Nicklin, J., Graeme-Cook, K., & Killington, R. (2000).** *L'essentiel en microbiologie*. Berti Editions.
- Niessen, L. (2007).** PCR-based diagnosis and quantification of mycotoxin producing fungi. *International journal of food microbiology*, 119(1-2), 38-46.
- Nikiéma, P. A. (1993).** Etude des aflatoxines au Burkina Faso: détermination quantitative et qualitative des aflatoxines de l'arachide par des tests biochimiques et immunologiques
- Northolt, M. D., Van Egmond, H. P., & Paulsch, W. E. (1979).** Ochratoxin A production by some fungal species in relation to water activity and temperature. *Journal of Food Protection*, 42(6), 485-490.

- Novas, M. V., & Cabral, D. (2002).** Association of mycotoxin and sclerotia production with compatibility groups in *Aspergillus flavus* from peanut in Argentina. *Plant Disease*, 86(3), 215-219.
- Novello, C., & Santamaria, C. (2005).** *L'allergie alimentaire. Thèse magister. Université Paris XII- Val de Marne. Paris. 32p.*
- Olsen, M., Jonsson, N., Magan, N., Banks, J., Fanelli, C., Rizzo, A., ... & Börjesson, T. (2003).** *Prevention of Ochratoxin A in Cereals. OTA PREV. Final Report. Quality of Life and Management of Living Resources. Project No. QLK1-CT-1999-00433.*
- Otteneder, H., & Majerus, P. (2000).** Occurrence of ochratoxin A (OTA) in wines: influence of the type of wine and its geographical origin. *Food Additives & Contaminants*, 17(9), 793-798.
- Pardo, E., Marín, S., Sanchis, V., & Ramos, A. J. (2005).** Impact of relative humidity and temperature on visible fungal growth and OTA production of ochratoxigenic *Aspergillus ochraceus* isolates on grapes. *Food Microbiology*, 22(5), 383-389.
- Partanen, H. A., El-Nezami, H. S., Leppänen, J. M., Myllynen, P. K., Woodhouse, H. J., & Vähäkangas, K. H. (2010).** Aflatoxin B1 transfer and metabolism in human placenta. *Toxicological Sciences*, 113(1), 216-225.
- Passone, A., Doprado, M., & Etcheverry, M. (2008).** Monitoring of aflatoxin contamination potential risk in sun dried peanuts and stored in big bag. VI Congreso Latinoamericano de Micología. Mar del Plata, Argentina, 10 al 13 de noviembre de 2008.
- Passone, M. A., Rosso, L. C., Ciancio, A., & Etcheverry, M. (2010).** Detection and quantification of *Aspergillus* section Flavi spp. in stored peanuts by real-time PCR of nor-1 gene, and effects of storage conditions on aflatoxin production. *International journal of food microbiology*, 138(3), 276-281.
- Paterson, R. R. M. (2006).** Fungi and fungal toxins as weapons. *Mycological research*, 110(9), 1003-1010.
- Patrick Rousset . (2008).** *Guide technique pour une utilisation énergétique des huiles végétales.* CIRAD.
- Perry, J.I., Staley, J.T., & Lory, S. (2004).** *Microbiologie.* Dunod. France.
- Peterson, S.W., Samson, R. A., & Pitt, J. I. (Eds.). (2000).** *Integration of modern taxonomic methods for Penicillium and Aspergillus classification.* CRC Press.
- .

- Pfohl-Leszkowicz, A. (2001).** Définition et origines des mycotoxines in Les mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque, Ed. *Tec & Doc*, 3-14.
- Pfohl-Leszkowicz, A. (1999).** Métabolisation des mycotoxines-Effets biologiques et pathologies-Ecotoxicogénèse. Dans «*Les mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque*» de Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. *Technique et Documentation, Paris*, 18-35.
- Pierre, G., Loiseau, N., Oswald, I. P., & Puel, O. (2006).** Toxicologie des mycotoxines: dangers et risques en alimentation humaine et animale. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*, 159(1), 5-13.
- Pildain, M. B., Frisvad, J. C., Vaamonde, G., Cabral, D., Varga, J., & Samson, R. A. (2008).** Two novel aflatoxin-producing *Aspergillus* species from Argentinean peanuts. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(3), 725-735.
- Pildain, M. B., Vaamonde, G., & Cabral, D. (2004).** Analysis of population structure of *Aspergillus flavus* from peanut based on vegetative compatibility, geographic origin, mycotoxin and sclerotia production. *International journal of food microbiology*, 93(1), 31-40
- Pinton, P. (2012).** *Toxicité et mode d'action, du déoxynivalenol et de ces dérivés acétylés sur l'intestin*. Ecole doctorale 472. Thèse de doctorat, pp.10.France.
- Pitt, J. I., Basilico, J. C., Abarca, M. L., & Lopez, C. (2000).** Mycotoxins and toxigenic fungi. *Medical mycology*, 38(sup1), 41-46.
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009).** *Fungi and food spoilage* (Vol. 519, p. 388). New York: Springer.
- Pitt, J. I., Hocking, A. D., Bhudhasamai, K., Miscamble, B. F., Wheeler, K. A., & Tanboon-Ek, P. (1993).** The normal mycoflora of commodities from Thailand. 1. Nuts and oilseeds. *International journal of food microbiology*, 20(4), 211-226.
- Pitt, J. I. (1987).** *Penicillium viridicatum*, *Penicillium verrucosum*, and production of ochratoxin A. *Applied and Environmental microbiology*, 53(2), 266-269.
- Pitt, J. I. (1988).** A laboratory guide to common *Penicillium* species. *CSI Res. Org. Div. Food Processing*.
- Prandini, A., Tanzini, G., Siglo, S., Filippi, L., Laporta, M., & Piva, G. (2009).** On occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology*, (47), 984 – 991...

- R. El Khoury. (2016).** *Maitrise du risque aflatoxique: Utilisation d'extraits naturels et mise en évidence de leurs mécanismes d'action* (Doctoral dissertation).
- Raiola, A., Tenore, G. C., Manyes, L., Meca, G., & Ritieni, A. (2015).** Risk analysis of main mycotoxins occurring in food for children: An overview. *Food and Chemical Toxicology*, 84, 169-180.
- Ramos, A. J., Labernia, N., Marm, S., Sanchis, V., & Magan, N. (1998).** Effect of water activity and temperature on growth and ochratoxin production by three strains of *Aspergillus ochraceus* on a barley extract medium and on barley grains. *International Journal of Food Microbiology*, 44(1-2), 133-140.
- Rakotoarimanana, S. R. (2010).** Contribution a l'amélioration de la comestibilité de l'huile d'arachide artisanale par raffinage. *Mémoire d'Ingénieur en Génie Chimique. Université d'Antananarivo* p.
- Raper, K., & Fennel, D.J. (1965).** *THE genus Aspergillus, Williams and wilkins editors, Baltimore.*
- Razzaghi-Abyaneh, M., Shams-Ghahfarokhi, M., Allameh, A., Kazeroon-Shiri, A., Ranjbar-Bahadori, S., Mirzahoseini, H., & Rezaee, M. B. (2006).** A survey on distribution of *Aspergillus* section Flavi in corn field soils in Iran: population patterns based on aflatoxins, cyclopiazonic acid and sclerotia production. *Mycopathologia*, 161, 183-192.
- Reboux, G. (2006).** **Mycotoxines:** effets sur la santé et interactions avec d'autres composants organiques. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 46(3), 208-212.
- Redouane-Salah, S., & Arhab, R. (2016).** Caractérisation mycologique des fourrages pour ruminants et recherche d'Aflatoxine M1 dans le lait cru de vache.
- Règlement (CE) N° 1425 / 2003 de la commission du 11 août 2003 modifiant le règlement (CE) N°466 / 2001 en ce qui concerne la patuline.**
- Règlement (CE) N°472 / 2002 de la commission du 12 mars 2002 modifiant le règlement (CE) N° 466 / 2001 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires.**
- Richard JL , Lyon RL. 1986.** Aflatoxins and their detection in animal tissues and fluides. *J.Toxicol.5* : 197- 215.
- Richard, J. L., Bhatnagar, D., Peterson, S., & Sandor, G. (1992).** Assessment of aflatoxin and cyclopiazonic acid production by *Aspergillus flavus* isolates from Hungary. *Mycopathologia*, 120, 183-188.

- Rodríguez, A., Rodriguez, M., Andrade, M. J., & Cordoba, J. J. (2015).** Detection of filamentous fungi in foods. *Current Opinion in Food Science*, 5, 36-42
- Rojas, T. R., Sampayo, C. A. F., Vázquez, B. I., Franco, C. M., & Cepeda, A. (2005).** Study of interferences by several metabolites from *Aspergillus* spp. in the detection of aflatoxigenic strains in media added with cyclodextrin. *Food Control*, 16(5), 445-450.
- Royer, G., & TAP, J. (2003).** Les mycotoxines. *Université Paris XII Année, 2004*.
- Ruadrew, S., Craft, J., & Aidoo, K. (2013). Occurrence of toxigenic *Aspergillus* spp. and aflatoxins in selected food commodities of Asian origin sourced in the West of Scotland. *Food and chemical toxicology*, 55, 653-658.
- Samson, R. A., Hong, S. B., & Frisvad, J. C. (2006).** Old and new concepts of species differentiation in *Aspergillus*. *Medical Mycology*, 44(Supplement_1), S133-S148
- Samson, R.A., Houbarken, J., Thrane, U., Frisvad, J.C., & Anderson, B. (2010).** *Food and Indoor Fungi*. CBS Laboratory Manual Series 2. *Central bureau voor schimmel cultures, Utrecht, The Netherlands* .
- Samson, R. A., Houbaken, J. A. M. P., Kuijpers, A. F., Frank, J. M., & Frisvad, J. C. (2004).** New ochratoxin A or sclerotium producing species in *Aspergillus* section *Nigri*. *Stud Mycol*, 50(1), 45-56.
- Samson, R. A., Visagie, C. M., Houbaken, J., Hong, S. B., Hubka, V., Klaassen, C. H., ... & Frisvad, J. (2014).** Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in mycology*, 78(1), 141-173.
- Scheidegger, K. A., & Payne, G. A. (2003).** Unlocking the secrets behind secondary metabolism: a review of *Aspergillus flavus* from pathogenicity to functional genomics. *Journal of Toxicology: Toxin Reviews*, 22(2-3), 423-459.
- Schilling, R. (1996)** . *L'arachide en Afrique tropicale. Collection : Le technicien d'agriculture tropicale*. Editions Maisonneuve et Larose. 171 p. Page 15 -30 et 142 – 146.
- Schmidt, F. R., & Esser, K. (1985).** Aflatoxins: medical, economic impact, and prospects for control. *Process biochemistry*, 20(6), 167-174.
- SEBEI, K., GNOUMA, A., HERCHI, W., SAKOUHI, F., & BOUKHCHINA, S. (2011).** Lipides, protéines, composition phénolique, antioxydantes et antibactériennes activités de semences d'arachides. *Arachis hypogaea. Volume 50. Numéro 4*, 447-454
- Sidhu, O. P., Chandra, H., & Behl, H. M. (2009).** Occurrence of aflatoxins in mahua (*Madhuca indica* Gmel.) seeds: Synergistic effect of plant extracts on inhibition of

Aspergillus flavus growth and aflatoxin production. *Food and Chemical Toxicology*, 47(4), 774-777.

Smart, J., & Stalker, H.T. (1982). *Speciation and cytogenetics in arachis. Peanut science and technology* 21-49.

Smith, M. C., Madec, S., Coton, E., & Hymery, N. (2016). Natural co-occurrence of mycotoxins in foods and feeds and their in vitro combined toxicological effects. *Toxins*, 8(4), 94.

Soher, E., & Mona, M. (2004). *Technology in the removal of aflatoxin B1 and fumonisin B1 from malt extract.* *Food and Chemical Toxicology, volume 42, 2004. 1825-1831.*

Sommer, N. F., Buchanan, J. R., & Fortlage, R. J. (1974). Production of patulin by *Penicillium expansum*. *Applied Microbiology*, 28(4), 589-593.

Strachan, T., & Read, A. P. (1999). *Human Molecular Genetics 2.* Taylor and Francis Books. 674 p.

Strohl, W. R. (1997). Industrial antibiotics: today and the future. *Biotechnology of antibiotics*, 1-47.

Sutra, L., Federighi, M., & Jouve, J. L. (1998). *Manuel de bactériologie alimentaire.* Polytechnica.

Sweeney, M. J., & Dobson, A. D. (1998). Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *International journal of food microbiology*, 43(3), 141-158.

Tabuc, C. (2007). *Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines* (Doctoral dissertation).

Troller, J.A. (1980). Influence of aw on micro-organisme in foods. *Food Techno*, 34 – 76.

Trucksess, M. W., & Scott, P. M. (2008). Mycotoxins in botanicals and dried fruits: a review. *Food additives and contaminants*, 25(2), 181-192.

Turner, P. C., Sylla, A., Gong, Y. Y., Diallo, M. S., Sutcliffe, A. E., Hall, A. J., & Wild, C. P. (2005). Reduction in exposure to carcinogenic aflatoxins by postharvest intervention measures in west Africa: a community-based intervention study. *The Lancet*, 365(9475), 1950-1956.

Udomkun, P., Wiredu, A. N., Nagle, M., Müller, J., Vanlauwe, B., & Bandyopadhyay, R. (2017). Innovative technologies to manage aflatoxins in foods and feeds and the profitability of application—A review. *Food control*, 76, 127-138.

Untermann, F. (1998). Microbial hazards in food. *Food Control*, 9(2-3), 119-126.

- 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)*, 7083-7088.
- Varga, J., Kocsube, S., Toth, B., Frisvad, J. C., Perrone, G., Susca, A., ... & Samson, R. A. (2007).** *Aspergillus brasiliensis* sp. nov., a biseriata black *Aspergillus* species with worldwide distribution. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(8), 1925-1932.
- Wagacha, J. M., & Muthomi, J. W. (2008).** Mycotoxin problem in Africa: current status, implications to food safety and health and possible management strategies. *International journal of food microbiology*, 124(1), 1-12
- Wogan, G. N. (2000, June).** Impacts of chemicals on liver cancer risk. In *Seminars in cancer biology* (Vol. 10, No. 3, pp. 201-210). Academic Press.
- Wangikar, P. B., Dwivedi, P., Sinha, N., Sharma, A. K., & Telang, A. G. (2005).** Effects of aflatoxin B1 on embryo fetal development in rabbits. *Food and Chemical Toxicology*, 43(4), 607-615.
- Wicklow, D. T., & Shotwell, O. L. (1983).** Intrafungal distribution of aflatoxins among conidia and sclerotia of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Canadian Journal of Microbiology*, 29(1), 1-5.
- Wilson, D. M., Mubatanhema, W., & Jurjevic, Z. (2002).** Biology and ecology of mycotoxigenic *Aspergillus* species as related to economic and health concerns. *Mycotoxins and food safety*, 3-17.
- Yu, J. (2012).** Current understanding on aflatoxin biosynthesis and future perspective in reducing aflatoxin contamination. *Toxins*, 4(11), 1024-1057.
- Zorzete, P., Baquião, A. C., Atayde, D. D., Reis, T. A., Gonçalez, E., & Corrêa, B. (2013).** Mycobiota, aflatoxins and cyclopiazonic acid in stored peanut cultivars. *Food Research International*, 52(1), 380-386.

Sites internet :

<https://www.alimentarium.org/fr/savoir/salage>.

Annexes

Milieu d'isolement DRBC (Dichloran Rose Bengale Chloramphénicol Agar)

Glucose	10 g
Peptone	5 g
KH ₂ PO ₄	1 g
MgSO ₄ ,7H ₂ O.....	0,5 g.
Rose Bengale.....	25 mg.
Dichloron (2,6 dichloro-4-nitroaniline).....	2 mg
Chloramphénicol.....	100mg
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH final 5,6 ± 0,2.

-Le Rose Bengale est additionné sous forme solubilisée à raison de 0, 5ml/litre de milieu d'une solution de 5% dans l'eau.

-Le dichloron est additionnée sous forme solubilisée à raison de 1 ml / litre de milieu d'une solution de 0,2 % dans l'éthanol.

2- Milieu CYA (Czapek Yeast extract Agar)

Saccharose.....	30 g
Extrait de levure.....	5 g
Czapek concentré.....	10 ml
K ₂ HPO ₄	1 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH final = 6,2 ±0,2

3- Milieu à base d'extrait de noix de coco gélosé (Coconut Agar Medium)

Cent grames (100 g) de la noix de coco déchiquetée sont homogénéisés pendant 5 minutes avec 300 ml d'eau distillée portée à ébullition. Le mélange est filtré à l'aide du tissu en mousseline. Le pH final est ajusté à 7 avec une solution de K₂ HPO₄ .le filtrat est additionné de 20 g d'agar puis complété à 1000 ml par l'eau distillée. 3g de β-cyclodextrine (β-cyd) sont ajoutés à un litre de milieu.

4- Milieu PDA (Potato, Dextrose, Agar)

Pomme de terre.....	200 g
Agar.....	15 g
Glucose.....	20 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH final = $5,6 \pm 0,2$

Nb. Tous les milieux sont stérilisés par durant 15 min à 120°C .

Matériel de laboratoire

- Etuve
- Balance de précision
- Agitateur va et vient
- Hotte à flux laminaire
- Autoclave
- Mixeur
- Microscope optique
- pH mètre
- Plaques de gel
- Vroyeur (Warring - blender)
- Evaporateur rotatif
- Verrie : boîte de Pétri, béchers, fioles jaugée, ballons, pipettes, tubes à essais, ampoule à décanter, colonne à verre, micro seringues Hamilton, cuve d'élution
- Les gants de laboratoire
- Les bavettes
- Lampe UV