

UNIVERSITE MOHAMMED V - RABAT  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT-

ANNEE: 2018

THESE N°: 24

ETUDE DE LA CONTAMINATION FONGIQUE  
ALIMENTAIRE ET MYCOTOXINES

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le : .....

PAR

Mlle. Noufissa ALOUI

Née le 03 Novembre 1990 à Settat

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

**MOTS CLES** : Contamination fongique – Denrées alimentaires – *Aspergillus* –  
Mycotoxines – LC-MSMS.

JURY

<b>Mr. I. LAHLOU AMINE</b> Professeur de Microbiologie		<b>PRESIDENT</b>
<b>Mr. B. E. LMIMOUNI</b> Professeur de Parasitologie-Mycologie		<b>RAPPORTEUR</b>
<b>Mr. R. EL JAUDI</b> Professeur de Toxicologie	}	<b>JUGES</b>
<b>Mr. M. BOUCHRIK</b> Professeur de Parasitologie-Mycologie		
<b>Mr. Y. RAHALI</b> Professeur de Pharmacie Galénique		

سُبْحَانَكَ اللَّهُمَّ الْعَلِيمُ

سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا  
إِنَّا أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

سورة البقرة: الآية: 31



**UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT**  
**FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

**DOYENS HONORAIRES :**

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ  
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH  
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK  
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI  
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI  
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI  
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI



**ADMINISTRATION :**

**Doyen** : Professeur Mohamed ADNAOUI  
**Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes**  
Professeur Mohammed AHALLAT  
**Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération**  
Professeur Taoufiq DAKKA  
**Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie**  
Professeur Jamal TAOUFIK  
**Secrétaire Général** : Mr. Mohamed KARRA

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS**

**ET  
PHARMACIENS**

**PROFESSEURS :**

**Décembre 1984**

Pr. MAAOUNI Abdelaziz	Médecine Interne – <b><u>Clinique Royale</u></b>
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi	Anesthésie -Réanimation
Pr. SETTAF Abdellatif	pathologie Chirurgicale

**Novembre et Décembre 1985**

Pr. BENSALD Younes	Pathologie Chirurgicale
--------------------	-------------------------

**Janvier, Février et Décembre 1987**

Pr. CHAHED OUAZZANI Houria	Gastro-Entérologie
Pr. LACHKAR Hassan	Médecine Interne
Pr. YAHYAOUI Mohamed	Neurologie

**Décembre 1988**

Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib	Chirurgie Pédiatrique
Pr. DAFIRI Rachida	Radiologie

### Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed  
Pr. CHAD Bouziane  
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne – Doyen de la FMPR  
Pathologie Chirurgicale  
Neurologie

### Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid  
Pr. HACHIM Mohammed\*  
Pr. KHARBACH Aïcha  
Pr. MANSOURI Fatima  
Pr. TAZI Saoud Anas

Pathologie Chirurgicale  
Médecine-Interne  
Gynécologie -Obstétrique  
Anatomie-Pathologique  
Anesthésie Réanimation

### Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia  
Pr. AZZOUZI Abderrahim  
Pr. BAYAHIA Rabéa  
Pr. BELKOUCHI Abdelkader  
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif  
Pr. BENSOU DA Yahia  
Pr. BERRAHO Amina  
Pr. BEZZAD Rachid  
Pr. CHABRAOUI Layachi  
Pr. CHERRAH Yahia  
Pr. CHOKAIRI Omar  
Pr. KHATTAB Mohamed  
Pr. SOULAYMANI Rachida  
Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique  
Anesthésie Réanimation – Doyen de la FMPO  
Néphrologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pharmacie galénique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Biochimie et Chimie  
Pharmacologie  
Histologie Embryologie  
Pédiatrie  
Pharmacologie – Dir. du Centre National PV  
Chimie thérapeutique V.D à la pharmacie+Dir du CEDOC

### Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed  
Pr. BENSOU DA Adil  
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib  
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza  
Pr. CHRAIBI Chafiq  
Pr. DEHAYNI Mohamed\*  
Pr. EL OUAHABI Abdessamad  
Pr. FELLAT Rokaya  
Pr. GHAFIR Driss\*  
Pr. JIDDANE Mohamed  
Pr. TAGHY Ahmed  
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale V.D Aff. Acad. et Estud  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Gynécologie Obstétrique  
Gynécologie Obstétrique  
Neurochirurgie  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Anatomie  
Chirurgie Générale  
Microbiologie

### Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Nouredine  
Pr. BEN RAIS Nozha  
Pr. CAOUI Malika  
Pr. CHRAIBI Abdelmjid  
Pr. EL AMRANI Sabah

Radiothérapie  
Biophysique  
Biophysique  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques Doyen de la FMPA  
Gynécologie Obstétrique



Pr. EL BARDOUNI Ahmed  
Pr. EL HASSANI My Rachid  
Pr. ERROUGANI Abdelkader  
Pr. ESSAKALI Malika  
Pr. ETTAYEBI Fouad  
Pr. HADRI Larbi\*  
Pr. HASSAM Badredine  
Pr. IFRINE Lahssan  
Pr. JELTHI Ahmed  
Pr. MAHFOUD Mustapha  
Pr. RHRAB Brahim  
Pr. SENOUCI Karima

### **Mars 1994**

Pr. ABBAR Mohamed\*  
Pr. ABDELHAK M'barek  
Pr. BELAIDI Halima  
Pr. BENTAHILA Abdelali  
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali  
Pr. BERRADA Mohamed Saleh  
Pr. CHAMI Ilham  
Pr. CHERKAOUI LallaOuafae  
Pr. JALIL Abdelouahed  
Pr. LAKHDAR Amina  
Pr. MOUANE Nezha

### **Mars 1995**

Pr. ABOUQUAL Redouane  
Pr. AMRAOUI Mohamed  
Pr. BAIDADA Abdelaziz  
Pr. BARGACH Samir  
Pr. CHAARI Jilali\*  
Pr. DIMOU M'barek\*  
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine\*  
Pr. EL MESNAOUI Abbes  
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila  
Pr. HDA Abdelhamid\*  
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed  
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia  
Pr. SEFIANI Abdelaziz  
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

### **Décembre 1996**

Pr. AMIL Touriya\*  
Pr. BELKACEM Rachid  
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim  
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan  
Pr. GAOUZI Ahmed  
Pr. MAHFOUDI M'barek\*  
Pr. OUADGHIRI Mohamed  
Pr. OUZEDDOUN Naima  
Pr. ZBIR EL Mehdi\*

Traumato-Orthopédie  
Radiologie  
Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**  
Immunologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Médecine Interne  
Dermatologie  
Chirurgie Générale  
Anatomie Pathologique  
Traumatologie – Orthopédie  
Gynécologie –Obstétrique  
Dermatologie

Urologie  
Chirurgie – Pédiatrique  
Neurologie  
Pédiatrie  
Gynécologie – Obstétrique  
Traumatologie – Orthopédie  
Radiologie  
Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie

Réanimation Médicale  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Gynécologie Obstétrique  
Médecine Interne  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Cardiologie -**Directeur HMI Med V**  
Urologie  
Ophtalmologie  
Génétique  
Réanimation Médicale

Radiologie  
Chirurgie Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Radiologie  
Traumatologie-Orthopédie  
Néphrologie  
Cardiologie



### Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan  
Pr. BEN SLIMANE Lounis  
Pr. BIROUK Nazha  
Pr. ERREIMI Naima  
Pr. FELLAT Nadia  
Pr. HAIMEUR Charki\*  
Pr. KADDOURI Nouredine  
Pr. KOUTANI Abdellatif  
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid  
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ  
Pr. TAOUFIQ Jallal  
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique  
Urologie  
Neurologie  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Pédiatrique  
Urologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Psychiatrie  
Gynécologie Obstétrique

### Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA  
Pr. BENOMAR ALI  
Pr. BOUGTAB Abdesslam  
Pr. ER RIHANI Hassan  
Pr. BENKIRANE Majid\*  
Pr. KHATOURI ALI\*

Gastro-Entérologie  
Neurologie – *Doyen de la FMP Abulcassis*  
Chirurgie Générale  
Oncologie Médicale  
Hématologie  
Cardiologie

### Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed\*  
Pr. AIT OUMAR Hassan  
Pr. BENJELLOUN DakhamaBadr.Sououd  
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine  
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer  
Pr. ECHARRAB El Mahjoub  
Pr. EL FTOUH Mustapha  
Pr. EL MOSTARCHID Brahim\*  
Pr. ISMAILI Hassane\*  
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim\*  
Pr. TACHINANTE Rajae  
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Pneumo-phtisiologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pneumo-phtisiologie  
Neurochirurgie  
Traumatologie Orthopédie- *Dir. Hop. Av. Marr.*  
Anesthésie-Réanimation *Inspecteur du SSM*  
Anesthésie-Réanimation  
Médecine Interne



### Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia  
Pr. AJANA Fatima Zohra  
Pr. BENAMR Said  
Pr. CHERTI Mohammed  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma  
Pr. EL HASSANI Amine  
Pr. EL KHADER Khalid  
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah\*  
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan  
Pr. MAHASSINI Najat  
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae  
Pr. ROUIMI Abdelhadi\*

Neurologie  
Gastro-Entérologie  
Chirurgie Générale  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Pédiatrie *Directeur Hop. ChekikhZaied*  
Urologie  
Rhumatologie  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Anatomie Pathologique  
Pédiatrie  
Neurologie

## Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH\*

ORL

## Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham\*  
Pr. BENABDELJILIL Maria  
Pr. BENAMAR Loubna  
Pr. BENAMOR Jouda  
Pr. BENELBARHDADI Imane  
Pr. BENNANI Rajae  
Pr. BENOACHANE Thami  
Pr. BEZZA Ahmed\*  
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi  
Pr. BOUMDIN El Hassane\*  
Pr. CHAT Latifa  
Pr. DAALI Mustapha\*  
Pr. DRISSI Sidi Mourad\*  
Pr. EL HIJRI Ahmed  
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid  
Pr. EL MADHI Tarik  
Pr. EL OUNANI Mohamed  
Pr. ETTAIR Said  
Pr. GAZZAZ Miloudi\*  
Pr. HRORA Abdelmalek  
Pr. KABBAJ Saad  
Pr. KABIRI EL Hassane\*  
Pr. LAMRANI Moulay Omar  
Pr. LEKEHAL Brahim  
Pr. MAHASSIN Fattouma\*  
Pr. MEDARHRI Jalil  
Pr. MIKDAME Mohammed\*  
Pr. MOHSINE Raouf  
Pr. NOUINI Yassine  
Pr. SABBABH Farid  
Pr. SEFIANI Yasser  
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Anesthésie-Réanimation  
Neurologie  
Néphrologie  
Pneumo-phtisiologie  
Gastro-Entérologie  
Cardiologie  
Pédiatrie  
Rhumatologie  
Anatomie  
Radiologie  
Radiologie  
Chirurgie Générale  
Radiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Neuro-Chirurgie  
Chirurgie-Pédiatrique  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie **Directeur. Hop.d'Enfants**  
Neuro-Chirurgie  
Chirurgie Générale  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Thoracique  
Traumatologie Orthopédie  
Chirurgie Vasculaire Périphérique  
Médecine Interne  
Chirurgie Générale  
Hématologie Clinique  
Chirurgie Générale  
Urologie **Directeur Hôpital Ibn Sina**  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Vasculaire Périphérique  
Pédiatrie



## Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane\*  
Pr. AMEUR Ahmed \*  
Pr. AMRI Rachida  
Pr. AOURARH Aziz\*  
Pr. BAMOU Youssef \*  
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene\*  
Pr. BENZEKRI Laila  
Pr. BENZZOUBEIR Nadia  
Pr. BERNOUSSI Zakiya  
Pr. BICHRA Mohamed Zakariya\*  
Pr. CHOHO Abdelkrim \*

Anatomie Pathologique  
Urologie  
Cardiologie  
Gastro-Entérologie  
Biochimie-Chimie  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Dermatologie  
Gastro-Entérologie  
Anatomie Pathologique  
Psychiatrie  
Chirurgie Générale

Pr. CHKIRATE Bouchra  
Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair  
Pr. EL HAOURI Mohamed \*  
Pr. FILALI ADIB Abdelhai  
Pr. HAJJI Zakia  
Pr. IKEN Ali  
Pr. JAAFAR Abdeloihab\*  
Pr. KRIOUILE Yamina  
Pr. LAGHMARI Mina  
Pr. MABROUK Hfid\*  
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss\*  
Pr. OUJILAL Abdelilah  
Pr. RACHID Khalid \*  
Pr. RAISS Mohamed  
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha\*  
Pr. RHOU Hakima  
Pr. SIAH Samir \*  
Pr. THIMOU Amal  
Pr. ZENTAR Aziz\*

#### **Janvier 2004**

Pr. ABDELLAH El Hassan  
Pr. AMRANI Mariam  
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas  
Pr. BENKIRANE Ahmed\*  
Pr. BOUGHALEM Mohamed\*  
Pr. BOULAADAS Malik  
Pr. BOURAZZA Ahmed\*  
Pr. CHAGAR Belkacem\*  
Pr. CHERRADI Nadia  
Pr. EL FENNI Jamal\*  
Pr. EL HANCHI ZAKI  
Pr. EL KHORASSANI Mohamed  
Pr. EL YOUNASSI Badreddine\*  
Pr. HACHI Hafid  
Pr. JABOUIRIK Fatima  
Pr. KHARMAZ Mohamed  
Pr. MOUGHIL Said  
Pr. OUBAAZ Abdelbarre\*  
Pr. TARIB Abdelilah\*  
Pr. TIJAMI Fouad  
Pr. ZARZUR Jamila

#### **Janvier 2005**

Pr. ABBASSI Abdellah  
Pr. AL KANDRY Sif Eddine\*  
Pr. ALLALI Fadoua  
Pr. AMAZOUZI Abdellah  
Pr. AZIZ Nouredine\*  
Pr. BAHIRI Rachid

Pédiatrie  
Chirurgie Pédiatrique  
Dermatologie  
Gynécologie Obstétrique  
Ophtalmologie  
Urologie  
Traumatologie Orthopédie  
Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Traumatologie Orthopédie  
Gynécologie Obstétrique  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Traumatologie Orthopédie  
Chirurgie Générale  
Pneumophtisiologie  
Néphrologie  
Anesthésie Réanimation  
Pédiatrie  
Chirurgie Générale

Ophtalmologie  
Anatomie Pathologique  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie Réanimation  
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
Neurologie  
Traumatologie Orthopédie  
Anatomie Pathologique  
Radiologie  
Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Traumatologie Orthopédie  
Chirurgie Cardio-Vasculaire  
Ophtalmologie  
Pharmacie Clinique  
Chirurgie Générale  
Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique  
Chirurgie Générale  
Rhumatologie  
Ophtalmologie  
Radiologie  
Rhumatologie



Pr. BARKAT Amina  
Pr. BENYASS Aatif  
Pr. BERNOUSSI Abdelghani  
Pr. DOUDOUH Abderrahim\*  
Pr. EL HAMZAOUI Sakina\*  
Pr. HAJJI Leila  
Pr. HESSISSEN Leila  
Pr. JIDAL Mohamed\*  
Pr. LAAROUSSI Mohamed  
Pr. LYAGOUBI Mohammed  
Pr. NIAMANE Radouane\*  
Pr. RAGALA Abdelhak  
Pr. SBIHI Souad  
Pr. ZERAIDI Najja

Pédiatrie  
Cardiologie  
Ophtalmologie  
Biophysique  
Microbiologie  
Cardiologie (mise en disponibilité)  
Pédiatrie  
Radiologie  
Chirurgie Cardio-vasculaire  
Parasitologie  
Rhumatologie  
Gynécologie Obstétrique  
Histo-Embryologie Cytogénétique  
Gynécologie Obstétrique

### Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

### Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen\*  
Pr. AKJOUJ Saïd\*  
Pr. BELMEKKI Abdelkader\*  
Pr. BENCHEIKH Razika  
Pr. BIYI Abdelhamid\*  
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine  
Pr. BOULAHYA Abdellatif\*  
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas  
Pr. DOGHMI Nawal  
Pr. FELLAT Ibtissam  
Pr. FAROUDY Mamoun  
Pr. HARMOUCHE Hicham  
Pr. HANAFI Sidi Mohamed\*  
Pr. IDRIS LAHLOU Amine\*  
Pr. JROUNDI Laila  
Pr. KARMOUNI Tariq  
Pr. KILI Amina  
Pr. KISRA Hassan  
Pr. KISRA Mounir  
Pr. LAATIRIS Abdelkader\*  
Pr. LMIMOUNI Badreddine\*  
Pr. MANSOURI Hamid\*  
Pr. OUANASS Abderrazzak  
Pr. SAFI Soumaya\*  
Pr. SEKKAT Fatima Zahra  
Pr. SOUALHI Mouna  
Pr. TELLAL Saïda\*  
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Rhumatologie  
Radiologie  
Hématologie  
O.R.L  
Biophysique  
Chirurgie - Pédiatrique  
Chirurgie Cardio – Vasculaire  
Gynécologie Obstétrique  
Cardiologie  
Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Médecine Interne  
Anesthésie Réanimation  
Microbiologie  
Radiologie  
Urologie  
Pédiatrie  
Psychiatrie  
Chirurgie – Pédiatrique  
Pharmacie Galénique  
Parasitologie  
Radiothérapie  
Psychiatrie  
Endocrinologie  
Psychiatrie  
Pneumo – Phtisiologie  
Biochimie  
Pneumo – Phtisiologie

### Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid  
Pr. ACHACHI Leila

Réanimation médicale  
Pneumo phtisiologie



Pr. ACHOUR Abdessamad\*  
 Pr. AIT HOUSSA Mahdi\*  
 Pr. AMHAJJI Larbi\*  
 Pr. AOUI Sarra  
 Pr. BAITE Abdelouahed\*  
 Pr. BALOUCH Lhousaine\*  
 Pr. BENZIANE Hamid\*  
 Pr. BOUTIMZINE Nourdine  
 Pr. CHARKAOUI Naoual\*  
 Pr. EHIRCHIOU Abdelkader\*  
 Pr. ELABSI Mohamed  
 Pr. EL MOUSSAOUI Rachid  
 Pr. EL OMARI Fatima  
 Pr. GHARIB Noureddine  
 Pr. HADADI Khalid\*  
 Pr. ICHOU Mohamed\*  
 Pr. ISMAILI Nadia  
 Pr. KEBDANI Tayeb  
 Pr. LALAOUI SALIM Jaafar\*  
 Pr. LOUZI Lhousain\*  
 Pr. MADANI Naoufel  
 Pr. MAHI Mohamed\*  
 Pr. MARC Karima  
 Pr. MASRAR Azlarab  
 Pr. MRABET Mustapha\*  
 Pr. MRANI Saad\*  
 Pr. OUZZIF Ezzohra\*  
 Pr. RABHI Monsef\*  
 Pr. RADOUANE Bouchaib\*  
 Pr. SEFFAR Myriame  
 Pr. SEKHSOKH Yessine\*  
 Pr. SIFAT Hassan\*  
 Pr. TABERKANET Mustafa\*  
 Pr. TACHFOUTI Samira  
 Pr. TAJDINE Mohammed Tariq\*  
 Pr. TANANE Mansour\*  
 Pr. TLIGUI Houssain  
 Pr. TOUATI Zakia

**Décembre 2007**

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

**Décembre 2008**

Pr ZOUBIR Mohamed\*  
 Pr TAHIRI My El Hassan\*

Chirurgie générale  
 Chirurgie cardio vasculaire  
 Traumatologie orthopédie  
 Parasitologie  
 Anesthésie réanimation **Directeur ERSM**  
 Biochimie-chimie  
 Pharmacie clinique  
 Ophtalmologie  
 Pharmacie galénique  
 Chirurgie générale  
 Chirurgie générale  
 Anesthésie réanimation  
 Psychiatrie  
 Chirurgie plastique et réparatrice  
 Radiothérapie  
 Oncologie médicale  
 Dermatologie  
 Radiothérapie  
 Anesthésie réanimation  
 Microbiologie  
 Réanimation médicale  
 Radiologie  
 Pneumo phtisiologie  
 Hématologique  
 Médecine préventive santé publique et hygiène  
 Virologie  
 Biochimie-chimie  
 Médecine interne  
 Radiologie  
 Microbiologie  
 Microbiologie  
 Radiothérapie  
 Chirurgie vasculaire périphérique  
 Ophtalmologie  
 Chirurgie générale  
 Traumatologie orthopédie  
 Parasitologie  
 Cardiologie



Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation  
 Chirurgie Générale

## **Mars 2009**

Pr. ABOUZAHIR Ali\*  
Pr. AGDR Aomar\*  
Pr. AIT ALI Abdelmounaim\*  
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia  
Pr. AKHADDAR Ali\*  
Pr. ALLALI Nazik  
Pr. AMINE Bouchra  
Pr. ARKHA Yassir  
Pr. BELYAMANI Lahcen\*  
Pr. BJIJOU Younes  
Pr. BOUHSAIN Sanae\*  
Pr. BOUI Mohammed\*  
Pr. BOUNAIM Ahmed\*  
Pr. BOUSSOUGA Mostapha\*  
Pr. CHAKOUR Mohammed \*  
Pr. CHTATA Hassan Toufik\*  
Pr. DOGHMI Kamal\*  
Pr. EL MALKI Hadj Omar  
Pr. EL OUENNASS Mostapha\*  
Pr. ENNIBI Khalid\*  
Pr. FATHI Khalid  
Pr. HASSIKOU Hasna \*  
Pr. KABBAJ Nawal  
Pr. KABIRI Meryem  
Pr. KARBOUBI Lamya  
Pr. L'KASSIMIHachemi\*  
Pr. LAMSAOURI Jamal\*  
Pr. MARMADE Lahcen  
Pr. MESKINI Toufik  
Pr. MESSAOUDI Nezha \*  
Pr. MSSROURI Rahal  
Pr. NASSAR Ittimade  
Pr. OUKERRAJ Latifa  
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani \*

## **PROFESSEURS AGREGES :**

### **Octobre 2010**

Pr. ALILOU Mustapha  
Pr. AMEZIANE Taoufiq\*  
Pr. BELAGUID Abdelaziz  
Pr. BOUAITY Brahim\*  
Pr. CHADLI Mariama\*  
Pr. CHEMSI Mohamed\*  
Pr. DAMI Abdellah\*  
Pr. DARBI Abdellatif\*  
Pr. DENDANE Mohammed Anouar  
Pr. EL HAFIDI Naima  
Pr. EL KHARRAS Abdennasser\*

Médecine interne  
Pédiatre  
Chirurgie Générale  
Neurologie  
Neuro-chirurgie  
Radiologie  
Rhumatologie  
Neuro-chirurgie  
Anesthésie Réanimation  
Anatomie  
Biochimie-chimie  
Dermatologie  
Chirurgie Générale  
Traumatologie orthopédique  
Hématologie biologique  
Chirurgie vasculaire périphérique  
Hématologie clinique  
Chirurgie Générale  
Microbiologie  
Médecine interne  
Gynécologie obstétrique  
Rhumatologie  
Gastro-entérologie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Microbiologie *Directeur Hôpital My Ismail*  
Chimie Thérapeutique  
Chirurgie Cardio-vasculaire  
Pédiatrie  
Hématologie biologique  
Chirurgie Générale  
Radiologie  
Cardiologie  
Pneumo-phtisiologie



Anesthésie réanimation  
Médecine interne  
Physiologie  
ORL  
Microbiologie  
Médecine aéronautique  
Biochimie chimie  
Radiologie  
Chirurgie pédiatrique  
Pédiatrie  
Radiologie

Pr. EL MAZOUZ Samir  
Pr. EL SAYEGH Hachem  
Pr. ERRABIH Ikram  
Pr. LAMALMI Najat  
Pr. MOSADIK Ahlam  
Pr. MOUJAHID Mountassir\*  
Pr. NAZIH Mouna\*  
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Chirurgie plastique et réparatrice  
Urologie  
Gastro entérologie  
Anatomie pathologique  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie générale  
Hématologie  
Anatomie pathologique

### Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed  
Pr. ABOUELALAA Khalil\*  
Pr. BELAIZI Mohamed\*  
Pr. BENCHEBBA Driss\*  
Pr. DRISSI Mohamed\*  
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna  
Pr. EL KHATTABI Abdessadek\*  
Pr. EL OUAZZANI Hanane\*  
Pr. ER-RAJI Mounir  
Pr. JAHID Ahmed  
Pr. MEHSSANI Jamal\*  
Pr. RAISSOUNI Maha\*

Chirurgie Pédiatrique  
Anesthésie Réanimation  
Psychiatrie  
Traumatologie Orthopédique  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Médecine Interne  
Pneumophtisiologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Anatomie pathologique  
Psychiatrie  
Cardiologie

### Février 2013

Pr. AHID Samir  
Pr. AIT EL CADI Mina  
Pr. AMRANI HANCHI Laila  
Pr. AMOUR Mourad  
Pr. AWAB Almahdi  
Pr. BELAYACHI Jihane  
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain  
Pr. BENCHEKROUN Laila  
Pr. BENKIRANE Souad  
Pr. BENNANA Ahmed\*  
0.  
Pr. BENSGHIR Mustapha\*  
Pr. BENYAHIA Mohammed\*  
Pr. BOUATIA Mustapha  
Pr. BOUABID Ahmed Salim\*  
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba  
Pr. CHAIB Ali\*  
Pr. DENDANE Tarek  
Pr. DINI Nouzha\*  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa  
Pr. ELFATEMI Nizare  
Pr. EL GUERROUJ Hasnae  
Pr. EL HARTI Jaouad

Pharmacologie – Chimie  
Toxicologie  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie Réanimation  
Réanimation Médicale  
Anesthésie Réanimation  
Biochimie-Chimie  
Hématologie  
Informatique Pharmaceutique

Anesthésie Réanimation  
Néphrologie  
Chimie Analytique  
Traumatologie Orthopédie  
Anatomie  
Cardiologie  
Réanimation Médicale  
Pédiatrie  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Neuro-Chirurgie  
Médecine Nucléaire  
Chimie Thérapeutique



Pr. EL JOUDI Rachid\*  
 Pr. EL KABABRI Maria  
 Pr. EL KHANNOUSSI Basma  
 Pr. EL KHLOUFI Samir  
 Pr. EL KORAICHI Alae  
 Pr. EN-NOUALI Hassane\*  
 Pr. ERRGUIG Laila  
 Pr. FIKRI Meryim  
 Pr. GHFIR Imade  
 Pr. IMANE Zineb  
 Pr. IRAQI Hind  
 Pr. KABBAJ Hakima  
 Pr. KADIRI Mohamed\*  
 Pr. LATIB Rachida  
 Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra  
 Pr. MEDDAH Bouchra  
 Pr. MELHAOUI Adyl  
 Pr. MRABTI Hind  
 Pr. NEJJARI Rachid  
 Pr. OUBEJJA Houda  
 Pr. OUKABLI Mohamed\*  
 Pr. RAHALI Younes  
 Pr. RATBI Ilham  
 Pr. RAHMANI Mounia  
 Pr. REDA Karim\*  
 Pr. REGRAGUI Wafa  
 Pr. RKAIN Hanan  
 Pr. ROSTOM Samira  
 Pr. ROUAS Lamiaa  
 Pr. ROUIBAA Fedoua\*  
 Pr. SALIHOUN Mouna  
 Pr. SAYAH Rochde  
 Pr. SEDDIK Hassan\*  
 Pr. ZERHOUNI Hicham  
 Pr. ZINE Ali\*

Toxicologie  
 Pédiatrie  
 Anatomie Pathologie  
 Anatomie  
 Anesthésie Réanimation  
 Radiologie  
 Physiologie  
 Radiologie  
 Médecine Nucléaire  
 Pédiatrie  
 Endocrinologie et maladies métaboliques  
 Microbiologie  
 Psychiatrie  
 Radiologie  
 Médecine Interne  
 Pharmacologie  
 Neuro-chirurgie  
 Oncologie Médicale  
 Pharmacognosie  
 Chirurgie Pédiatrique  
 Anatomie Pathologique  
 Pharmacie Galénique  
 Génétique  
 Neurologie  
 Ophtalmologie  
 Neurologie  
 Physiologie  
 Rhumatologie  
 Anatomie Pathologique  
 Gastro-Entérologie  
 Gastro-Entérologie  
 Chirurgie Cardio-Vasculaire  
 Gastro-Entérologie  
 Chirurgie Pédiatrique  
 Traumatologie Orthopédie

### Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim\*  
 Pr. GHOUNDALE Omar\*  
 Pr. ZYANI Mohammad\*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
 Urologie  
 Médecine Interne

**\*Enseignants Militaires**



## MARS 2014

ACHIR ABDELLAH  
BENCHAKROUN MOHAMMED  
BOUCHIKH MOHAMMED  
EL KABBAJ DRISS  
EL MACHTANI IDRISSE SAMIRA  
HARDIZI HOUYAM  
HASSANI AMALE  
HERRAK LAILA  
JANANE ABDELLA TIF  
JEAIDI ANASS  
KOUACH JAOUAD  
LEMNOUER ABDELHAY  
MAKRAM SANAA  
OULAHYANE RACHID  
RHISSASSI MOHAMED JMFAR  
SABRY MOHAMED  
SEKKACH YOUSSEF  
TAZL MOUKBA. :LA.KLA.

**\*Enseignants Militaires**

## DECEMBRE 2014

ABILKACEM RACHID'  
AIT BOUGHIMA FADILA  
BEKKALI HICHAM  
BENAZZOU SALMA  
BOUABDELLAH MOUNYA  
BOUCHRIK MOURAD  
DERRAJI SOUFIANE  
DOBLALI TAOUFIK  
EL AYOUBI EL IDRISSE ALI  
EL GHADBANE ABDEDAIM HATIM  
EL MARJANY MOHAMMED  
FEJJAL NAWFAL  
JAHIDI MOHAMED  
LAKHAL ZOUHAIR  
OUDGHIRI NEZHA  
Rami Mohamed  
SABIR MARIA  
SBAI IDRISSE KARIM

**\*Enseignants Militaires**

Chirurgie Thoracique  
Traumatologie- Orthopédie  
Chirurgie Thoracique  
Néphrologie  
Biochimie-Chimie  
Histologie- Embryologie-Cytogénétique  
Pédiatrie  
Pneumologie  
Urologie  
Hématologie Biologique  
Généologie-Obstétrique  
Microbiologie  
Pharmacologie  
Chirurgie Pédiatrique  
CCV  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Généologie-Obstétrique

Pédiatrie  
Médecine Légale  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Maxillo-Faciale  
Biochimie-Chimie  
Parasitologie  
Pharmacie Clinique  
Microbiologie  
Anatomie  
Anesthésie-Réanimation  
Radiothérapie  
Chirurgie Réparatrice et Plastique  
O.R.L  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Pédiatrique  
Psychiatrie  
Médecine préventive, santé publique et Hyg.



## AOUT 2015

Meziane meryem  
Tahrilatifa

Dermatologie  
Rhumatologie

## JANVIER 2016

BENKABBOU AMINE  
EL ASRI FOUAD  
ERRAMI NOUREDDINE  
NITASSI SOPHIA

Chirurgie Générale  
Ophtalmologie  
O.R.L  
O.R.L

## **2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES**

### PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie – chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. CHAHED OUAZZANI LallaChadia	Biochimie – chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootecnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*Mise à jour le 14/12/2016 par le  
Service des Ressources Humaines*





*Dédicaces*

*Au Bon Dieu*

*Tout puissant, Qui m'a guidé dans le bon chemin*

*Je vous dois ce que je suis devenue*

*Louanges et remerciements*

*Pour votre clémence et miséricorde*

*A mon très cher père*

*A. Ahmed*

*En plus de la prudence et de la sécurité qu'une mère peut transmettre, j'ai de la chance d'avoir un père comme toi, l'homme idéal, celui qui m'a transmis le sens de l'aventure, de la responsabilité et surtout celui du partage, tu es l'exemple que j'admire, pour toutes les peines et les sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*Tu es le socle de notre famille, le rempart sur lequel nous tes enfants pouvons toujours compter*

*J'espère, cher père, que j'ai gagné ta confiance et ta satisfaction et je ferai de mon mieux pour rester sujet de fierté à tes yeux*

*Ce travail ne saurait exprimer mon amour, mon respect et ma profonde reconnaissance.*

*Que Dieu te protège et t'accorde santé, longue vie et bonheur.*

*A ma très chère mère*

*K. Touhamia*

*Tu as toujours été l'amie, la sœur et la maman bien avant tout, tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

*Je te dédie cette thèse pour avoir pu cimenter ma vie dans un douillet cocon familial, fait d'amour, de bravoure et de zèle au travail, pour les journées et les nuits sans repos, pour les heures pleines de tendresse et de bonheur et pour l'ampleur de tes sacrifices. Tu es ce que j'ai de plus précieux au monde, je te suis redevable de ce que je suis aujourd'hui et je te jure qu'aucun mot ni expression ne sauraient exprimer mon amour et ma gratitude.*

*Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ces enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.*

*Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A ma sœur Mariam et sa petite famille.*

*Je vous souhaite une bonne santé et un avenir plein de joie, de bonheur et de réussite dans votre vie professionnelle et familiale. Je vous exprime à travers ce travail mes sentiments d'amour et de respect.*

*A ma sœur Imane,*

*Je te souhaite tout ce qu'il y'a de bien dans ce monde. Que le Bon Dieu te garde et t'assure une belle et joyeuse vie. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.*

*A Soufiane, et toute ma famille.*

*Vos prières et vos bénédictions m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. J'apporte à vous beaucoup d'affection et de reconnaissance. En témoignage de l'amour que je porte pour vous.*

*A la mémoire de ma tante*

*Femme en or, l'admiration que j'ai pour vous est sans limites. L'amour et le respect que j'ai pour vous ne cessera jamais, votre dignité et sens d'honneur me servent de modèle. Ce travail est votre.*

*Que Dieu vous accueille dans son paradis. AMEN*

*A mes amies d'enfance*

*Loubna Elghalib, Yasmina Benkirane, Kawtar Bzioui*

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes mes amies sur qui je peux compter.*

*En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé, de bonheur, d'amour et de réussite.*

*On est condamnée à vie. Je vous aime*

*A mes amis,*

*Ilyasse, Kawtar Bellamine, Fadwa.J, RajaaMabchour, Abdessamad Belhous.*

*Vous serez toujours mon soutien pour toutes les épreuves que nous ont réservées ces études. Et en souvenir de nos éclats de rire et de nos beaux moments.*

*Je vous aime*

*A tous ceux qui me sont chers et que j'ai involontairement omis de citer*



*Remerciements*

*A notre maître et président de thèse*

*Monsieur le professeur Idriss Lahlou Amine*

*Professeur de Microbiologie*

*Vous avez bien voulu nous faire honneur en acceptant de présider le Jury de  
cette thèse.*

*Vos qualités humaines et professionnelles sont pour nous un exemple à  
suivre.*

*Soyez assuré de notre vive reconnaissance et de notre profond respect.*

*A notre maître et rapporteur de thèse*  
*Monsieur le professeur Badre Eddine Lmimouni*  
*Professeur de Parasitologie-Mycologie.*

*Vous avez bien voulu nous confier ce travail riche d'intérêt et nous guider à  
chaque étape de sa réalisation.*

*Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre gentillesse méritent  
toute admiration.*

*Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude  
tout en vous témoignant notre respect.*

*A notre maître et juge de thèse*  
*Monsieur le professeur El jaoudi Rachid*  
*Professeur de Toxicologie*

*Vous avez accepté avec grande amabilité de juger cette thèse.*

*Cet honneur nous touche infiniment et nous tenons à vous exprimer nos sincères remerciements pour vos efforts et surtout pour votre aide précieuse.*

*Nous vous exprimons aussi notre profond respect pour ce que vous êtes.*

*A notre maître et juge de thèse*

*Monsieur le professeur Bouchrik Mourad*

*Professeur de Parasitologie-Mycologie*

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de  
juger ce travail.*

*Veillez accepter, maître, l'expression de notre profond respect et de notre  
reconnaissance.*

*A notre maître et juge de thèse*  
*Monsieur le professeur Rahali Younes*  
*Professeur de Pharmacie galénique*

*Nous vous remercions vivement pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail, nous sommes très sensibles à votre gentillesse, votre accueil très aimable et votre aide précieuse.*

*Veillez croire en nos sentiments les plus respectueux*

*A Mme Maryem IKEN*

*Professeur-assistant en Parasitologie-Mycologie*

*Nous vous remercions pour votre estimable participation dans l'élaboration  
de ce travail.*

*Permettez nous de vous exprimer notre admiration pour vos qualités  
humaines et professionnelles.*

*Veillez trouvez ici l'expression de notre grand respect et nos vifs  
remerciements.*



*Liste des illustrations*

## Liste des abréviations

<b>A</b>	: Aflatoxine
<b>AFB1</b>	: Aflatoxine B1
<b>AFB2</b>	: Aflatoxine B2
<b>AFG1</b>	: Aflatoxine G1
<b>AFG2</b>	: Aflatoxine G2
<b>AFM1</b>	: Aflatoxine M1
<b>AFM2</b>	: Aflatoxine M2
<b>AFSS</b>	: Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
<b>AF<sub>T</sub></b>	: Aflatoxines totales
<b>AND</b>	: Acide désoxyribonucléique
<b>Aw</b>	: Activité de l'eau
<b>B.P</b>	: Boîte de Pétri
<b>CP450</b>	: Cytochrome P450
<b>CYP</b>	: cytochrome P
<b>DHTP</b>	: Dose Hebdomadaire Tolérable Provisoire.
<b>DL50</b>	: Dose Létale 50
<b>DON</b>	: Déoxynivalénol
<b>F</b>	: Fusarium
<b>FAO</b>	: Food and Drug Organization
<b>FB1</b>	: Fumosine B1
<b>FB2</b>	: Fumosine B2
<b>FDA</b>	: Food and Drug administration
<b>GST</b>	: Glutathion S-Transférase

<b>Hr</b>	: Humidité relative
<b>I I TA</b>	: International Institute for Tropical Agriculture
<b>IARC</b>	: Centre International de Recherche sur le Cancer
<b>IgA</b>	: Immuno-globuline A
<b>IgG</b>	: Immuno-globuline G
<b>IgM</b>	: Immuno-globuline M
<b>INH</b>	: Institut National d'Hygiène
<b>ISO</b>	: Organisation Internationale de Normalisation
<b>JECFA</b>	: Comité mixte FAO/OMS d'experts sur les additifs alimentaires
<b>Kg-pc</b>	: kilogramme de poids corporel
<b>LC-DAD</b>	: Chromatographie liquide avec détecteur à barrettes de diodes
<b>LC-MS</b>	: Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse
<b>MS</b>	: Spectrométrie de masse
<b>OMS</b>	: Organisation Mondiale de la Santé
<b>OTA</b>	: Ochratoxine A
<b>OTC</b>	: Ochratoxine C
<b>P</b>	: Penicillium
<b>pH</b>	: Potentiel hydrogène
<b>PM</b>	: Poids moléculaire
<b>ppm</b>	: Partie par million
<b>QSP</b>	: Quantité suffisante pour
<b>T2</b>	: Toxine T2
<b>UV</b>	: Ultraviolet
<b>ZEA</b>	: Zéaralénone

## Liste des figures

<b>Figure1:</b> Structures chimiques des aflatoxines.....	24
<b>Figure2:</b> Voie métabolique d'Aflatoxine B1 .....	27
<b>Figure3:</b> Métabolisme de l'aflatoxine B1 dans le foie (adapté par Swick 1984 et NEAL 1998).....	28
<b>Figure4 :</b> Structure chimique des ochratoxines A, B et C.....	35
<b>Figure5.</b> : Schéma de la métabolisation de l'ochratoxine A (Pfohl-Leszkowicz & Manderville, 2007). .....	38
<b>Figure6 :</b> Structure chimique générale des principaux trichothécènes des groupes A et B.....	46
<b>Figure7 :</b> Structure moléculaire de la zéaralène. ....	51
<b>Figure 8:</b> Structure moléculaire de la patuline. ....	54
<b>Figure 9:</b> Structure chimique de la fumonisine B1.....	56
<b>Figure10:</b> Caractères morphologiques des <i>Aspergillus</i> . ....	59
<b>Figure 11 :</b> <i>Aspergillus niger</i> (a : Culture du thé contaminé sur milieu <i>sabouraud</i> après 96h d'incubation ; b : Au microscope Gr X40) .....	60
<b>Figure12:</b> Caractères morphologiques des <i>Penicillium spp</i> : (a) Pinceau monoverticillé (b) biverticillé (c) biverticillé fourchu ( <i>furcatum</i> ) (d) terverticillé (D'après Raper et Thom, 1968 et Pitt 1979).....	62
<b>Figure13:</b> <i>Penicillium spp</i> (a : culture du thé contaminé sur milieu <i>saboruaud</i> après 7jours d'incubation; b : Microscope Gr : X40) .....	63
<b>Figure14:</b> Schéma d'un <i>mucorale</i> (Joffin 2017) .....	64
<b>Figure15:</b> <i>Mucorale</i> : Culture du piment rouge sur milieu <i>sabouraud</i> après incubation de 72heures .....	65
<b>Figure16:</b> Différents <i>mucorales</i> retrouvés dans les échantillons traités durant notre étude.....	65

<b>Figure17:</b> Schéma de la structure de <i>Fusarium</i> (Toffa, 2015) .....	67
<b>Figure18 :</b> Répartition des échantillons dans des pots stériles numérotés.....	88
<b>Figure19 :</b> Répartition du milieu <i>Sabouraud</i> dans des Boîtes de Pétri.....	89
<b>Figure20:</b> Incubation des échantillons à 26.3°C.....	90
<b>Figure21:</b> Cumin et piment rouge sur Sabouraud .....	90
<b>Figure22:</b> Test de schotch au bleu coton.....	91
<b>Figure23:</b> Test de scotch sur B.P contenant du cumin contaminé.....	91
<b>Figure24:</b> Examen direct au bleu coton .....	91
<b>Figure25:</b> Appareillage de LC-MSMS .....	93
<b>Figure26:</b> Moisissures présentes dans les différents échantillons après 7 jours d'incubation .....	95
<b>Figure27:</b> Moisissures présentes dans les différents échantillons après 14 jours d'incubation .....	95
<b>Figure28 :</b> Moisissures isolées des denrées alimentaires analysées en pourcentage.....	96
<b>Figure29:</b> Pourcentage des échantillons positifs en fonction des denrées alimentaires. ....	97
<b>Figure30:</b> Pourcentage des échantillons poly contaminés, mono contaminés pour les différents échantillons.....	98
<b>Figure31:</b> Chromatogramme de l'analyse d'aflatoxine .....	101
<b>Figure32:</b> Chromatogramme de l'analyse d'ochratoxine A.....	101

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Mycotoxines et moisissures productrices associées retrouvées en alimentation humaine et /ou animale.....	5
<b>Tableau II</b> : Activité de l'eau ( $A_w$ ) nécessaire pour le développement de quelques moisissures.....	14
<b>Tableau III</b> : Effets identifiés ou suspectés des principales mycotoxines et mécanismes d'action cellulaires et moléculaires identifiés expérimentalement .....	19
<b>Tableau IV</b> : Propriétés physico-chimiques des aflatoxines.....	23
<b>Tableau V</b> : Principaux trichothécènes.....	46
<b>Tableau VI</b> : Différentes espèces d' <i>Aspergillus</i> retrouvées dans notre étude. ....	61
<b>Tableau VII</b> : <i>Mucorales</i> très fréquemment retrouvés dans les denrées alimentaires. ....	66
<b>Tableau VIII</b> : Différentes espèces fongiques présentes dans les 22 échantillons traités.....	99
<b>Tableau IX</b> : Détection de la présence des mycotoxines dans les 22 échantillons traités.....	102
<b>Tableau X</b> : Moisissures isolées et mycotoxines associées .....	108



# *Sommaire*

<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>Première partie : Mycotoxines</b> .....	3
Chapitre 1 : Mycotoxines dans les produits alimentaires.....	4
Introduction.....	4
I. DECOUVERTE DES MYCOTOXINES.....	6
II. Moisissures toxigènes. ....	8
III. Contamination des matières premières par les mycotoxines. ....	9
IV. Facteurs de production des mycotoxines dans les aliments.....	12
1. Facteurs physiques. ....	13
2. Facteurs chimiques.....	15
3. Facteurs biologiques. ....	16
V. Contamination de la chaîne alimentaire de l'Homme. ....	17
VI. Mycotoxines et risques pour le consommateur.....	17
VII. Mycotoxines et risques pour l'animal. ....	20
Chapitre II. Principaux types de mycotoxines et mycotoxicogénèse. ....	22
1. Aflatoxines. ....	22
a) Définition. ....	22
b) Propriétés physico-chimiques. ....	23
c) Devenir de l'aflatoxine B1 dans l'organisme. ....	25
d) Facteurs influençant la teneur en aflatoxines dans les denrées alimentaires. ....	29
e) Effets toxiques chez l'Homme. ....	30
f) Valeurs toxiques de référence. ....	33
2. Ochratoxines. ....	34
a) Définition. ....	34
b) Propriétés physico-chimiques. ....	34

c) Devenir de l'ochratoxine A dans l'organisme.....	36
d) Facteurs influençant la teneur en ochratoxine dans les denrées alimentaires.....	39
e) Occurrence de l'OTA dans les aliments au Maroc.....	40
f) Effets toxiques des ochratoxines.....	41
<i>i. Toxicité aiguë</i> .....	41
<i>ii. Toxicité chronique</i> .....	41
g) Valeurs toxicologiques de référence.....	44
3. Trichothécènes.....	44
a. Définition.....	44
b. Propriétés physico-chimiques.....	45
c. Facteurs influençant la teneur en trichothécènes dans les denrées alimentaires.....	46
d. Devenir et propriétés toxicologiques.....	47
e. Valeurs toxicologiques de référence.....	50
4. Zéaralénones.....	50
a. Définition.....	50
b. Propriétés physico-chimiques.....	51
c. Facteurs influençant la teneur en zéaralénone dans les denrées alimentaires.....	52
d. Effets toxiques de la zéaralénone.....	52
e. Valeurs toxiques de référence.....	52
5. Patuline.....	53
a. Définition.....	53
b. Propriétés physico-chimiques.....	53
c. Effets toxiques de la patuline.....	54
d. Valeurs toxicologiques de référence.....	55
6. Fumonisines.....	55
a. Définition.....	55

b. Propriétés physico-chimiques.....	55
c. Effets toxiques des fumonisines.....	56
d. Valeurs toxicologiques de référence. ....	57
7. Autres mycotoxines.....	57
8. Principaux genres fongiques responsables de la synthèse des mycotoxines .....	58
A. <i>Aspergillus</i> .....	58
B. <i>Penicillium</i> .....	62
C. <i>Mucorale</i> .....	64
D. <i>Fusarium</i> .....	66
CADRE REGLEMENTAIRE: .....	68
1. Mycotoxines dans les denrées alimentaires marocaines.....	68
1.1. Céréales et dérivés au Maroc,.....	68
1.2. Fruits secs .....	71
1.3. Epices en général, .....	71
1.4. Olives noires de table .....	72
2. Arrêté conjoint du ministre de l’agriculture et de la pêche maritime et du ministre de la santé n°1643-16 du 23 chaabane 1437 (30 mai 2016) .....	71
<b>Deuxième partie : Contamination fongique des denrées alimentaires et extraction des éventuelles mycotoxines.....</b>	<b>83</b>
Introduction. ....	84
I. MATERIEL ET METHODES.....	86
A. Contamination fongique des denrées alimentaires.....	86
I. Matériel.....	86
I.1. Echantillons à analyser.....	86
I.2. Matériel.....	86
II. Méthodes.....	87

II.1 Réception et étiquetage des échantillons.....	87
II.2 Culture, isolement et identification.....	88
Méthodes d'identification des souches fongiques.....	90
B. Extraction des mycotoxines.....	92
I. Matériel et réactifs.....	92
I.1. Matériel.....	92
I.2 Réactifs.....	93
II. Méthodes :.....	93
II.1 Préparation d'échantillons et extraction des mycotoxines.....	93
II.2 Conditions analytiques de LCMSMS.....	94
II.3 Conditions du spectromètre de masse.....	94
III. Mycotoxines recherchées.....	94
II. RESULTATS.....	95
A. Contamination fongique.....	96
Résultats de l'étude mycologique de tous les échantillons.....	98
B .Extraction des éventuelles mycotoxines.....	100
a-Aflatoxines.....	101
b-Ochratoxine A.....	101
III. DISCUSSION.....	103
A. Discussion des résultats de l'étude mycologique.....	103
B. Discussion de l'extraction des mycotoxines.....	107
IV. CONCLUSION.....	111
V. RESUMES	
VI. BIBLIOGRAPHIE	




# *Introduction générale*

La sécurité des aliments fait l'objet d'une attention accrue de la part des consommateurs, des gouvernements et des producteurs du fait d'une prise de conscience des enjeux pour la santé humaine et animale, dans un contexte de marché mondial. Les incidents relatifs à la contamination chimique de la chaîne alimentaire suscitent ainsi une forte médiatisation qui renforce les inquiétudes. Ces contaminants peuvent provenir de sources naturelles, comme c'est le cas des mycotoxines. Ces dernières sont des champignons toxigènes qui constituent un danger réel pour la santé de l'Homme et de l'animal par la sécrétion de substances hautement toxiques au cours de leur prolifération sur ou dans les aliments d'origine végétale ou animale. Ces mycotoxines sont répandues à tous les stades de la chaîne alimentaire. Elles ont une composition chimique très variable, ce qui fait que leurs propriétés physico-chimiques et toxicologiques sont extrêmement variées. Ces effets concernent en général la cancérogénicité, la génotoxicité, la tératogénocité, l'hépatotoxicité et l'immunotoxicité .

Parmi les pays concernés on trouve le Maroc, car il est entouré par l'océan Atlantique et par la mer Méditerranéenne, caractérisé par un climat chaud et humide favorisant la croissance des moisissures dans les zones côtières abritant environ 70% de la population totale. Ces conditions climatiques sont probablement favorables pour la croissance des moisissures et la production des mycotoxines.

✓ L'objectif de notre travail est d'étudier dans un premier temps la contamination fongique de 22 denrées alimentaires prélevées dans différents points de vente de la ville de Rabat au Maroc (thé, café, poudre de chocolat, piment rouge, poivre, cumin et gingembre). Dans un deuxième temps, l'étude des mycotoxines éventuellement produites par ces denrées.



*Première partie :*  
*Mycotoxines*

# Chapitre 1 : Mycotoxines dans les produits alimentaires.

## Introduction.

Les maladies d'origine alimentaire constituent à l'heure actuelle l'un des problèmes de santé publique les plus répandus à l'échelle internationale. Ces maladies sont causées par divers agents en particulier les microorganismes pathogènes.

Produites par des moisissures, les mycotoxines sont des métabolites secondaires toxiques se développant sur la plante en plein champ ou lors du stockage, dans toutes les régions du monde. Plus de 300 mycotoxines ont pu être identifiées et environ une trentaine de ces molécules a une véritable importance en termes de santé animale et humaine <sup>[2]</sup>. Les plus communes dans les aliments et les plus importantes au niveau sanitaire et économique sont les aflatoxines, les ochratoxines, les trichothécènes, la zéaralénone, les fumonisines, les alcaloïdes de l'ergot, la citrine, la patuline<sup>[3]</sup>. Leur production est aléatoire et répond généralement à des signaux issus de l'environnement tels que la température, l'humidité, la nature du substrat ou la présence d'autres moisissures. Une mycotoxine peut être produite par différentes souches de moisissures et une souche peut produire plusieurs toxines différentes, en fonction des conditions climatiques <sup>[4]</sup>.

Les mycotoxines produisent divers effets néfastes sur la santé tels que les néphropathies, cancers, pathologies hépatiques syndromes hémorragiques, désordres immunologiques et neurologiques. En cas de forte contamination, elles peuvent donner lieu à une symptomatologie aiguë conduisant à la mort. En général, le danger est plus pernicieux et résulte d'une exposition chronique à de faibles doses <sup>[5,6]</sup>.

Les causes sont : une baisse du rendement des productions des animaux d'élevage (contaminés par leurs alimentations), des aliments non commercialisables (altération des caractéristiques organoleptiques) ou une destruction lorsque les denrées sont trop contaminées.

En effet, les risques potentiels pour la santé humaine et animale ont été parfaitement pris en compte par différentes organisations internationales, dont la FAO, la FDA (Food and Drug

administration), l'OMS (organisation mondiale de la santé) et la commission européenne, qui se sont dotées d'une réglementation.

Les toxines les plus préoccupantes en santé humaine sont produites par les moisissures du genre *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (Tableau I)

**Tableau I : Mycotoxines et moisissures productrices associées retrouvées en alimentation humaine et /ou animale.<sup>[7]</sup>**

	<b>Mycotoxines</b>	<b>Principales moisissures productrices.</b>
<b>Mycotoxines réglementées ou en cours de réglementation</b>	Aflatoxines B1, B2, G1, G2	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i>
	Ochratoxine A	<i>Penicillium verrucosum</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Aspergillus carbonarius</i>
	Patuline	<i>Penicillium expansum</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> <i>Byssochlamys nivea</i>
	Fumonisines B1, B2, B3	<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i>
	Trichothécènes (DON)	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> <i>F. crookwellense</i> , <i>F. sporotrichioides</i> <i>F. poae</i> , <i>F. tricinctum</i> , <i>F. acuminatum</i>
	Zéaralénone	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> <i>F. crookwellense</i> .
	Alcaloïdes d'ergot (dit ergot du seigle)	<i>Claviceps purpurea</i> , <i>C. paspali</i> , <i>C. africana</i>

<b>Autres mycotoxines</b>	Citrinine	<i>Aspergillus terreus</i> , <i>A. carneus</i> , <i>A. niveus</i> <i>Penicillium verrucosum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. expansum</i>
	Toxines d'Alternaria (alternariol, alternariol méthyl éther...)	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Alternaria solani</i>
	Acide cyclopiazonique	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. tamarisii</i> <i>Penicillium</i> dont <i>P. camemberti</i>
<b>Autres mycotoxines</b>	Stérigmatocystine	<i>Aspergillus nidulans</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. flavus</i>
	Sporidesmines	<i>Pithomyces chartarum</i>
	Stachybotryotoxines	<i>Strachybotrys chartarum</i>
	Toxines d'endophytes (ergovaline, lolitrème B)	<i>Neotyphodium coenophialum</i> , <i>N. lolii</i>
	Phomopsines	<i>Phomopsis leptostromiformis</i>
	Toxines trémorgènes	<i>Penicillium roquefortii</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>P. puberrelum</i> <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>A. fumigatus</i>

## I. DECOUVERTE DES MYCOTOXINES.

Dès le moyen âge, les chroniques décrivent les effets mortels de l'ergot du seigle dont l'agent causal *Claviceps purpurea* est responsable de l'élaboration d'une toxine mortelle : l'ergotamine.

Ensuite, des études permettaient d'isoler du maïs contaminé par *Penicillium*, l'acide pénicillique première mycotoxine identifiée.

En Angleterre (1960), l'ingestion d'une farine d'arachide importée du Brésil et aussi contaminée par *Aspergillus flavus* a entraîné la mort brutale d'une centaine de milliers de dindonneaux après l'apparition des premiers symptômes : perte de l'appétit, faiblesse des ailes et léthargie. Cet événement dénommé autrefois tout simplement « *Turkey-X- Disease* » a donné le départ d'une série d'études et de recherches physicochimiques et toxicologiques sur les substances actives élaborées par les moisissures. Ainsi en 1960, le nom d'aflatoxine est attribué à cette nouvelle matière toxique.

Au Maroc, bien que l'on signale dès 1945 à l'Institut National d'Hygiène, une intoxication de porcs par une alimentation moisie d'après Ninard et Hinterman, cité par Lafont (1970), les premières recherches scientifiques faisant mention de la contamination des denrées alimentaires par des champignons toxigènes n'ont vu le jour qu'au milieu des années 70 où un nombre de produits incluant des céréales, des légumineuses et des épices se sont révélées susceptibles d'héberger des spores d'*Aspergillus* toxigènes <sup>[8]</sup>

D'autres travaux ont montré la contamination des olives par *Aspergillus flavus* et *A. ochraceus* producteurs respectifs d'Aflatoxines et Ochratoxines, <sup>[9]</sup> de même qu'avec une multitude d'autres espèces fongiques qui se sont avérées capables de produire des métabolites toxiques mis en évidence à l'aide de tests biologiques <sup>[10]</sup>. Les investigations faites par Faid et Tantaoui-Elaraki (1989) ont mis à jour la toxigénèse de deux moisissures les plus fréquentes sur fruits d'agrumes *Penicillium italicum* et *P. digitatum*.

Kichou et Wasler (1993) ont signalé la présence de l'aflatoxine B1 dans l'alimentation destinée à la volaille.

Tantaoui-Elaraki et Bartine (1994) ont ensuite isolé des souches d'*Aspergillus. Flavus* productrices d'ochratoxine A sur diverses épices distribuées au Maroc.

Les investigations effectuées par l'équipe de l'Institut National d'Hygiène (2006) ont aussi montré la contamination des fruits secs et des olives noires commercialisés au Maroc par

l'Ochratoxine A <sup>[11]</sup> , et les céréales et les épices par certaines mycotoxines notamment les aflatoxines, la zéaralénone, l'Ochratoxine A et la fumonisine B1 <sup>[12]</sup> .

## II. Moisissures toxigènes.

Deux groupes de moisissures toxigènes (producteurs de mycotoxines) peuvent être distingués. Le premier type est constitué de champignons envahissant leur substrat et produisant la mycotoxine sur plantes sénescents ou stressées : il sera question de **toxines de champs**. L'autre groupe rassemble ceux qui produisent les toxines après récolte ; on les qualifiera de **toxines de stockage**. Ainsi, des champignons du sol où des débris de plantes peuvent disséminer leurs spores sur la plante ou les grains puis proliférer pendant le stockage si les conditions le permettent.<sup>[13]</sup>

Des 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, de l'humidité (activité en eau  $A_w$  supérieure à 0,6), d'où la grande variété des substrats alimentaires contaminés. Les aliments contaminés par les mycotoxines peuvent être classés en deux grands groupes : les aliments et produits d'origine végétale, et ceux d'origine animale.

Parmi les produits et aliments d'origine végétale, les céréales et leurs produits dérivés qui présentent le plus grand facteur de risque compte tenu de la fréquence de contamination et de leur consommation importante en Europe quelque soit le régime alimentaire. Les autres produits d'origine végétale sont les fruits et légumes secs (graines oléagineuses, haricots et raisins secs), les épices, les jus et produits de fermentation (jus de pomme, de raisin, bière, vin et cidre)<sup>[13]</sup> .

Parmi les produits et aliments d'origine animale, le lait, les œufs, les viandes, les abats et tout ce qui en dérive doivent retenir l'attention.

Certaines moisissures sont utilisées dans l'élaboration de condiments ou d'aliments comme les fromages et, de ce fait, doivent répondre à des critères stricts de sécurité.

Plusieurs espèces fongiques sont utilisées depuis des siècles pour la préparation d'aliments en Occident et en Extrême-orient.

De nouvelles utilisations de micromycètes sont freinées par la crainte de présence de mycotoxines. Autrefois sélectionnées sur la base de l'absence de toxicité observable, elles sont aujourd'hui passées par le crible des méthodes de toxico-génomique pour détecter des gènes de toxinogénèse.<sup>[13]</sup>

### **III. Contamination des matières premières par les mycotoxines.**

Les moisissures sont des champignons filamenteux qui se développent sur une large gamme de produits alimentaires d'origine animale et végétale. Les principaux substrats sur lesquels elles prolifèrent sont les cultures oléagineuses, protéagineuses et céréalières, mais on les retrouve également dans les fourrages comme la luzerne ou la fétuque, ainsi que dans le café, le cacao, le riz, la bière, le vin et les épices. Elles sont très résistantes à la décomposition et ne sont pas détruites par les traitements thermiques, comme la cuisson et la congélation, et très stables à l'acidité et à la chaleur. Cette stabilité rend leur élimination difficile et, par conséquent, la décontamination des denrées alimentaires sera très problématique <sup>[6]</sup>.

Il a été également démontré qu'elles sont résistantes à la décomposition dans le système digestif des animaux. Par conséquent, si du bétail consomme des aliments contaminés par des mycotoxines, celles-ci peuvent être transmises à la viande et aux produits laitiers. Selon la Food and Agricultural Organization of the United Nation (FAO), plus de 25 % des récoltes mondiales sont contaminées par des quantités significatives de mycotoxine.<sup>[14]</sup>

Les conditions climatiques en Afrique subsaharienne sont favorables à la croissance des moisissures. L'augmentation des transports internationaux de denrées alimentaires et l'intensification des méthodes culturales induisent un risque accru de contaminations croisées par les mycotoxines. Les nouveaux produits incorporés dans l'alimentation animale, la constitution de stocks et les modifications des pratiques de rationnement du bétail accroissent le risque de contamination du bétail et du passage des mycotoxines dans la chaîne alimentaire humaine.<sup>[15]</sup>

### ▪ Contamination en plein champ.

Elle touche aussi bien les cultures que les récoltes. D'une manière générale, les moisissures qui se développent sur les graines au champ nécessitent une humidité de l'ordre de 20 à 25% pour leur croissance.<sup>[16]</sup>

Les facteurs écologiques et les pratiques culturales favorisant la contamination sont les suivants :

#### ✓ Au champ :

Les insectes, parasites des cultures, créent des lésions au niveau de l'enveloppe des graines qui favorisent la pénétration de l'inoculum à l'intérieur de la graine. Ces derniers constituent par la suite un terrain favorable à l'infestation par des champignons comme *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*. Plusieurs types d'insectes et leurs larves attaquent la plante et prédisposent celle-ci à une infection par des champignons avant que l'épi ne se forme.

Lors de la récolte, des inoculats de moisissures peuvent persister dans le champ. Les résidus laissés dans le champ après la récolte peuvent constituer un lieu de survie et de développement fongique l'année suivante.

L'irrigation, liée aux conditions climatiques est un facteur difficilement maîtrisable. Il a été montré qu'un stress hydrique important suivi de conditions de forte humidité était favorable au développement de *Fusarium moniliforme*.

#### ✓ Au moment de la récolte

Les conditions de la récolte peuvent intervenir dans le développement des contaminations lors du stockage ultérieur des céréales. En effet, des grains insuffisamment mûrs ont une teneur en eau élevée, supérieure à 17%. Plus l'humidité est importante, plus les conditions du développement fongique seront favorables.

Les grains brisés par action mécanique constituent un terrain favorable au développement des champignons au cours du stockage et à l'attaque d'insectes.<sup>[16]</sup>

### ▪ Développement pendant le stockage.

Le stockage du grain a généralement lieu dans des silos. Sa durée est variable en fonction de l'étalement de la consommation de la récolte. Des mauvaises conditions de stockage associées au facteur temps peuvent être favorables au développement de la flore fongique de stockage, notamment lorsque les systèmes de ventilation sont insuffisants pour assurer une bonne régulation de la température. Lorsque la contamination des céréales par les mycotoxines a lieu au cours du stockage, elle est liée au développement de moisissures capables de croître sur des substrats contenant 10 à 18% d'humidité.

L'humidité trop importante des grains, associée à une température élevée sont les conditions requises pour la croissance de la flore. Son développement peut générer des odeurs de moisi qui se retrouvent ensuite dans le pain, une modification des propriétés plastiques des pâtes, une diminution de la faculté germinative des grains. Les risques de production de mycotoxines de stockage dont les principales produites sont l'ochratoxine A et la citrinine ne sont pas négligeables.<sup>[16]</sup>

L'altération du grain stocké peut être liée à la présence d'insectes et d'acariens. Ces derniers sont capables de se développer à des taux d'humidité même très faibles (10%) et leur vitesse de multiplication augmente avec l'élévation de la température. Leur présence peut faciliter la contamination et le développement des moisissures de stockage.

L'origine de la contamination reste mal connue, mais les spores disséminées par l'air peuvent provenir du champ ou de la poussière présente dans les infrastructures de stockage. Les acariens vivant sur les grains moisissés, récupèrent et transportent les spores des champignons sur leur corps, mais également dans leur tube digestif et leurs fèces. De ce fait, les acariens peuvent être des vecteurs de contamination des grains sains.<sup>[16]</sup>

Les conditions de prolifération, la toxicité et les synergies d'actions entre différentes mycotoxines ou avec d'autres pathogènes sont très peu documentées<sup>[17]</sup>.

En outre, le coût des analyses permettant de détecter ces contaminants est peu accessible pour les pays pauvres. Cependant, une récente étude menée en Afrique de l'Ouest, conjointement par l'International Institute for Tropical Agriculture (IITA), l'Université de Leeds, et la

London School of Hygiene and Tropical Medicine, a démontré une corrélation positive entre le retard de croissance pondérale et la concentration sanguine en aflatoxine chez les enfants sevrés. [18-19]

Ces observations justifient clairement le besoin de développer des stratégies limitant l'exposition des populations subsahariennes, et plus particulièrement les enfants, aux produits agricoles contaminés par cette toxine. Dans le cas précis de la contamination indirecte de la chaîne alimentaire humaine via l'alimentation du bétail, il importe d'envisager l'ensemble de la filière : de la fabrication des aliments distribués au bétail jusqu'aux produits finis : la viande, le lait et les produits laitiers.

La contamination de l'aliment distribué au bétail sera conditionnée par une série d'éléments. Il s'agit des sous-produits composant la ration, de leur condition de culture, de récolte et de conservation. Les composants entrant dans la ration détermineront le complexe de mycotoxines ingéré par l'animal.

#### **IV. Facteurs de production des mycotoxines dans les aliments.**

Toutes les récoltes poussant à des climats chauds et humides et exposées aux moisissures toxigènes peuvent être contaminées par les mycotoxines. C'est le cas notamment du maïs, des fruits à coque, des arachides, des graines de coton, des noix, des pistaches, des épices, du soja, du riz, des amandes, des fruits secs, du lait et ses dérivés et des céréales et leurs dérivés etc.

Certaines cultures sont moins favorables par rapport à d'autres pour la production d'une ou plusieurs mycotoxines par les champignons. Ceci est probablement dû à des facteurs génétiques. D'autres cultures comme les céréales offrent aux champignons de très bonnes conditions de développement vu leur richesse en glucides reconnus comme principales sources d'énergie.

Le blé, l'orge, le seigle, l'avoine, le sorgho, le millet et le riz, apparaissent être moins susceptibles à la contamination fongique et la production d'aflatoxine par rapport au maïs.

Les moisissures responsables de l'altération des graines sont réparties en deux groupes écologiques :

- Les moisissures du champ : *Alternaria* et *Fusarium*
- Les moisissures de stockage : *Aspergillus* et *Penicillium*.

La sécrétion par les moisissures de métabolites toxiques dans les aliments dépend de plusieurs facteurs : physiques, chimiques et biologiques.<sup>[20]</sup>

## 1. Facteurs physiques.

- Activité de l'eau.

L'activité de l'eau ( $A_w$ ) joue un rôle primordial sur la croissance des moisissures en particulier sur la germination des spores et la croissance du mycélium. L'exigence et la tolérance des moisissures vis à vis de l'eau sont variables d'une souche à l'autre.

La toxino-génèse est fortement liée à l'activité de l'eau ( $A_w$ ). Quand les autres facteurs ne sont pas limitant, la toxino-génèse croît d'une façon exponentielle avec l' $A_w$  jusqu'à un maximum où on observe un ralentissement de la toxino-génèse due à un défaut d'oxygénation.<sup>[21]</sup>

Les moisissures sont classées en trois groupes :

- ❖ **Les espèces hygrophiles** dont les spores germent à plus de 90% et leur croissance optimale se situe à 100 % d'humidité relative (*Mucor* sp.).
- ❖ **Les espèces mésophiles** dont les spores germent entre 80 et 90% et leur croissance optimale se situe entre 95 et 100% d'humidité relative (*Alternaria* sp., *Penicillium* sp.).
- ❖ **Les espèces xérophiles** dont les spores germent à moins de 80% et leur croissance optimale se situe entre 95 et 100% d'humidité relative (*Aspergillus* sp, *Penicillium* sp.).

Concernant les *Aspergillus*, l' $A_w$  optimale de leur croissance se situe entre 0,72 et 0,80 selon les espèces. Cependant la plupart des *Penicillium* pousse mieux à des  $A_w$  comprises entre 0,8 et 0,90. Les espèces du genre *Fusarium* se développent à des  $A_w$  entre 0,80 et 0,92.

Le tableau n° II résume les valeurs limites nécessaires pour le développement de quelques types de moisissures.

En effet, la formation des aflatoxines par *A. flavus* nécessite une valeur d' $A_w$  comprise entre 0,84 et 0,86, mais la croissance du micro-organisme producteur peut avoir lieu à des valeurs d' $A_w$  plus basses.

❖ Il est à noter que l' $A_w$  requise pour la production de mycotoxines est généralement plus faible que celle nécessaire pour la croissance des moisissures et la germination des spores.

**Tableau II: Activité de l'eau ( $A_w$ ) nécessaire pour le développement de quelques moisissures.**<sup>[22, 23]</sup>

Moisissures	Activité d'eau ( $A_w$ )
<i>A. ochraceus</i>	0, 83–0, 87
<i>A. flavus</i>	0, 84–0, 86
<i>A. niger</i>	0, 88
<i>P. cyclopium</i>	0, 87 – 0, 90
<i>Fusarium sp</i>	0, 80 – 0, 92

- Température ( $T^\circ$ ) et pH.

La température optimale de toxinogénèse est généralement voisine (légèrement inférieure) de la température optimale de croissance des souches productrices<sup>[24]</sup>.

*Aspergillus ochraceus* est une espèce qui se développe entre 8 et 37°C, avec un optimum entre 24 et 37°C. Peu d'informations sont disponibles sur *A. carbonarius* car sa capacité à produire l'Ochratoxine A (OTA) n'a été rapportée que récemment. Des études préliminaires récentes indiquent des conditions optimales entre 32 et 35°C<sup>[25]</sup>.

*Aspergillus niger* se développe de façon optimale à des températures hautes, avec un optimum entre 35-37°C.

*Penicillium verrucosum*, quant à lui, est capable de croître à basse température (entre 0 et 31°C, l'optimum est à 20°C). La patuline, l'acide pénicillique et l'OTA sont élaborés à des températures généralement inférieures à celles de la croissance.

Les températures optimales de croissance et de production d'aflatoxines chez *A. flavus* sont proches <sup>[24]</sup>. Pour d'autres toxines (trichothécène et zéaralénone), la température optimale de toxinogénèse peut être jusqu'à 10°C inférieure à celle de la croissance. <sup>[21]</sup>

Le pH du milieu est un facteur important dans la croissance des moisissures et la production des mycotoxines. La plupart des moisissures croissent dans des pH acides et peuvent tolérer des valeurs de pH très basses.

## **2. Facteurs chimiques.**

- La nature du substrat.

Les moisissures sont des organismes hétérotrophes, se développant exclusivement sur des substrats organiques contenus dans les produits alimentaires de base (oléagineux, céréales, produits laitiers etc.).

Les glucides sont des sources de carbone les plus utilisées par les moisissures. La présence de quelques substances dans les aliments stimule la croissance des moisissures et la production des mycotoxines comme le saccharose et les acides aminés.

La contamination d'une denrée alimentaire par les moisissures dépend de la nature du substrat en particulier de la nature des glucides disponibles. <sup>[26]</sup>

- Traitements agricoles.

L'utilisation des produits phytosanitaires sur les plantes pendant les traitements agricoles a une action préventive sur l'apparition des mycotoxines. L'emploi des insecticides protège des lésions dues aux insectes et acariens et réduit la contamination par les souches toxigènes ou la production des mycotoxines.

- Oxygène.

La réduction de la pression partielle en oxygène a un effet inhibiteur bien plus important sur la toxinogénèse que sur la croissance du champignon. La production d'aflatoxine est fortement inhibée lorsque la concentration en oxygène est inférieure à 1 % .<sup>[20]</sup>

- Endommagement des graines.

Les graines cassées ou fissurées constituent des foyers favorables pour le développement des moisissures qui après leur envahissement libèrent les toxines. Leur altération par les insectes et les acariens fournit également les conditions favorables pour la croissance et le développement des moisissures.

### **3. Facteurs biologiques.**

Les facteurs biologiques sont liés à l'espèce fongique, à la spécificité et la variation de la souche et à l'instabilité des propriétés toxiques. Une même toxine peut être élaborée par différentes espèces qui peuvent être de genres différents. C'est notamment le cas de la patuline et de l'OTA qui sont produites par plusieurs espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium*.

Une même espèce peut également produire plusieurs toxines (production d'OTA et de citrinine par *Penicillium verrucosum* ; d'OTA et d'acide pénicillique par *Aspergillus ochraceus* ; production de citrinine et de patuline par *Penicillium claviforme* ou *Aspergillus terreus*).<sup>[27]</sup>

Au sein d'une espèce réputée toxinogène, toutes les souches peuvent ne pas avoir cette propriété. La fréquence des souches toxinogènes dépend de l'espèce fongique. Pour une même espèce, la production des toxines peut dépendre de la région et du substrat d'origine.<sup>[28]</sup>

A côté de tous ces facteurs qui sont généraux aux mycotoxines, il faut relever que chaque souche toxinogène a une physiologie différente et par conséquent un habitat écologique différent.

## **V. \*Contamination de la chaîne alimentaire de l'Homme.**

L'entrée des mycotoxines dans l'alimentation humaine s'effectue soit directement par la consommation de denrées végétales contaminées (arachides, pistaches, amandes...), soit indirectement par des produits dérivés à partir desquels sont élaborés les produits finis, par exemple la farine de céréales. Les mycotoxines peuvent également se transmettre dans la chaîne alimentaire de l'homme par l'ingestion de denrées d'origine animale (laits, produits laitiers, abats, charcuterie...), si l'animal a été nourri des végétaux eux-mêmes contaminés, c'est le cas de l'aflatoxine B1 et de l'ochratoxine A.

Si la ration alimentaire d'une vache laitière est enrichie en tourteaux de maïs ou d'arachide pollués par de l'aflatoxine B1, le lait produit contiendra de l'aflatoxine M1. Il a été évalué que 0,5 à 4% de l'aflatoxine B1 présente dans des céréales, se retrouvait sous forme M1 dans le lait ainsi que dans les produits laitiers élaborés à partir de ce lait contaminé. <sup>[29-31]</sup>

L'ochratoxine A est un contaminant des céréales qui entrent dans l'alimentation des volailles et des porcs. Le transfert de cette mycotoxine dans les produits charcutiers a lieu à partir de porcs ou de volailles nourris avec des grains contaminés. On retrouve de l'ochratoxine A dans les abats et dans les préparations charcutières.

## **VI. Mycotoxines et risques pour le consommateur.**

La toxicité de ces contaminants naturels peut être directe ou indirecte vis à vis des organismes consommant des denrées alimentaires contaminées. Certaines mycotoxines ont une toxicité aiguë très marquée (exposition unique à une forte dose), mais il est exceptionnel en Europe d'être exposé à des doses toxiques en une seule ingestion d'aliments contaminés. Historiquement, la mycotoxicose la plus anciennement connue est l'ergotisme. <sup>[13]</sup>

Il s'agit d'une pathologie également appelée « feu de Saint-Antoine », « feu sacré » ou « mal des ardents ». Elle est provoquée par les toxines de *Claviceps* élaborées par l'ergot de seigle et se présente sous forme de délires, prostrations, douleurs violentes, abcès, gangrènes des extrémités aboutissant à des infirmités graves et incurables. Des épidémies ont sévi du 8e au 16e siècle en raison des conditions d'alimentation misérables des populations, en particulier la

consommation de farines contaminées par les sclérotés de ces champignons. En France, le dernier épisode s'est produit en 1951 à Pont Saint-Esprit, dans le Gard.

Les effets chroniques (exposition répétée à de faibles voire très faibles doses) sont les plus redoutés en raison des habitudes alimentaires et du pouvoir de rémanence de ces toxines.

La toxicité est variable (tableau n° III). Certaines toxines exercent un pouvoir hépatotoxique (aflatoxines), d'autres se révèlent oestrogéniques (zéaralénone), immuno/hématotoxiques (patuline, trichothécènes, fumonisines), dermonécrosantes (trichothécènes), néphrotoxiques (ochratoxine A) ou neurotoxiques (toxines trémorgènes).

Certaines mycotoxines sont reconnues ou suspectées d'être cancérogènes. En outre, plusieurs mycotoxines peuvent être présentes dans le même produit ou la même ration alimentaire.<sup>[13]</sup>

**Tableau III : Effets identifiés ou suspectés des principales mycotoxines et mécanismes d'action cellulaires et moléculaires identifiés expérimentalement<sup>[32]</sup>**

<b>Toxines</b>	<b>Effets</b>	<b>Mécanismes d'action cellulaires et moléculaires</b>
<b>Aflatoxine B1 + M1</b>	Hépatotoxicité Génotoxicité Cancérogénicité Immunomodulation	Formation d'adduit à l'ADN Peroxydation lipidique Bioactivation par cytochromes P450 Conjugaison aux GS-transférases
<b>Ochratoxine A</b>	Néphrotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Impact sur la synthèse des protéines. Inhibition de la production d'ATP Détoxification par les peptidases
<b>Patuline</b>	Neurotoxicité Mutagenèse <i>in vitro</i>	Inhibition indirecte d'enzymes
<b>Trichothécènes (Toxine T-2, DON, ...)</b>	Hématotoxicité Immunomodulation Toxicité cutanée	Induction de l'apoptose sur progéniteur hématopoïétique et cellules immunitaires Impact sur la synthèse des protéines Altération des immunoglobulines
<b>Zéaralène</b>	Fertilité et Reproduction	Liaison aux récepteurs oestrogéniques Bioactivation par des réductases Conjugaison aux glucuronyltransférases
<b>Fumonisine B1</b>	Lésion du système nerveux central Hépatotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Inhibition de la synthèse de céramide Altération du rapport sphinganine/sphingosine Altération du cycle cellulaire

Pour les consommateurs humains, un autre type de risque est indirect car il est induit par la présence possible de résidus dans les productions issues des animaux de rente exposés à une alimentation contaminée par les mycotoxines.

Ces résidus correspondent à la toxine elle-même et/ou à des métabolites bioformés conservant les propriétés toxiques du composé parental. Les espèces d'élevage peuvent donc constituer un vecteur de ces toxines ou de leurs métabolites dans des productions telles que la viande, le lait ou les œufs. C'est le cas notamment de l'aflatoxine B1, dont le métabolite l'aflatoxine M1 est retrouvé dans le lait des mammifères lorsque ceux-ci ont ingéré des aliments contaminés par l'aflatoxine B1.

Les mycotoxines sont généralement thermostables et ne sont pas détruites par les procédés habituels de cuisson et de stérilisation.

Leur capacité à se lier aux protéines plasmatiques et leur lipophilie en font des toxiques capables de persister dans l'organisme en cas d'expositions répétées et rapprochées.<sup>[32]</sup>

## **VII. Mycotoxines et le risque pour l'animal.**

Les animaux monogastriques d'élevage, volailles et porcs sont particulièrement exposés aux mycotoxicoses du fait de l'importance de la part des céréales dans leur alimentation et de l'absence du réservoir ruminal contenant des microorganismes capables de dégrader les toxines avant leur absorption intestinale. La susceptibilité des volailles aux aflatoxines a été à l'origine de la découverte de ces toxines après un épisode brutal d'hépatotoxicité létale survenu en 1960 dans des élevages de dindes en Grande-Bretagne.

Ce fait a été à l'origine de la mise en évidence de la relation moisissures-toxines-maladies et du développement de la mycotoxicologie moderne. De même, de nombreux cas de néphropathie chez le porc signalés quelques années plus tard au Danemark ont conduit à la découverte du caractère contaminant naturel de l'ochratoxine A dans l'orge et de la qualification de son pouvoir toxique.<sup>[32]</sup>

En France, en dehors des cas sporadiques correspondant à des accidents aigus observables dans différentes espèces animales, l'essentiel des problèmes est lié à une contamination chronique par les fusariotoxines (trichothécènes, zéaralène, fumonisines) des aliments produits en France ou importés. Les problèmes ponctuels dus à l'importation de matières premières contaminées justifient des procédures de surveillance et de contrôle.

Enfin, le développement des techniques de conservation des fourrages à la ferme sous forme humide et l'utilisation d'aliments humides comme les drêches et les pulpes de betterave peuvent également constituer un risque de développement des moisissures et de présence de mycotoxines. <sup>[32]</sup>

## Chapitre II. Principaux types de mycotoxines et mycotoxicogénèse.

### 1. Les Aflatoxines.

#### a) Définition.

Les aflatoxines sont des métabolites secondaires synthétisés par des souches d'*Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* et *A. nomius* <sup>[33]</sup>. En effet, *A. parasiticus* est un champignon mieux adapté au sol et prédominant chez l'arachide, alors que *A. flavus* est adapté à la vie aérienne des plantes (fleurs) et il est dominant en particulier dans les cultures de maïs. Une distinction biochimique entre les souches productrices d'aflatoxines est que *A. flavus* produit seulement les aflatoxines B, alors que *A. nomius* et *A. parasiticus* produisent les aflatoxines B et G.<sup>[1]</sup>

Les aflatoxines constituent un groupe de dix-huit composés dont quatre sont les formes les plus couramment rencontrées dans les aliments. Il s'agit des aflatoxines B1, B2, G1 et G2 produites par la moisissure *Aspergillus* et qui sont les plus toxiques.<sup>[34]</sup>

L'AFB1 est la plus toxique, suivie par ordre décroissant de toxicité, par l'AFM1, l'AFG1, l'AFB2 et l'AFG2. La toxicité des aflatoxines G1, B2 et G2 sont respectivement 50, 80 et 90% moindre que celle de l'AFB1. <sup>[35]</sup>

Les aflatoxines sont produites sous les climats tropicaux et subtropicaux dans des conditions de post-récolte défectueuses caractérisées par une humidité et une température élevées. De nombreux produits destinés à l'alimentation des animaux ou à l'Homme peuvent en contenir et parfois en quantité non négligeable : graines d'arachide, maïs, blé, céréales, amandes, noix, pistaches, figues, dattes, cacao. Elles sont métabolisées, chez l'animal de rente, au niveau du foie puis éliminées sous forme de composés sulfo et glucurono conjugués par voie urinaire ou par le lait. L'aflatoxine B1 est absorbée par le bétail avec l'aliment contaminé puis métabolisée en un dérivé, aflatoxine M1 qui est excrétée par le lait. Elle est par la suite, présente dans les produits laitiers : le lait écrémé et les produits obtenus par précipitation lactique comme les yaourts, le fromage blanc, les crèmes lactées. Le beurre n'en contient pas, car elle se trouve concentrée dans la phase aqueuse du babeurre en raison

d'interactions hydrophobes avec les caséines du lait. La toxicité est chronique, à effets tératogènes et cancérigènes, liée à l'ingestion régulière et itérative d'aflatoxines présentes dans les aliments. <sup>[29 ; 16]</sup>

### **b) Propriétés physico-chimiques.**

Les aflatoxines sont des molécules de faible poids moléculaire (312 à 330 g/mol), très peu solubles dans l'eau, insolubles dans les solvants non polaires, très solubles dans les solvants organiques moyennement polaires (chloroforme et alcool méthylique), elles sont facilement extraites.

Sous lumière ultra-violette (U.V. longs), elles sont fluorescentes (bleue pour les AFB "blue" d'où vient leurs noms AFB1 et AFB2 et verte pour les AFG "green" pour AFG1 et AFG2, l'AFM1 ayant une fluorescence bleu-mauve).

**Tableau IV : Propriétés physico-chimiques des aflatoxines.**

<b>Aflatoxines</b>	<b>Formule brute</b>	<b>Point de fusion (°C)</b>	<b>Masse molaire (g/mol)</b>
<b>AFB1</b>	$C_{17}H_{12}O_6$	267	312,3
<b>AFB2</b>	$C_{17}H_{14}O_6$	303- 306	314,3
<b>AFG1</b>	$C_{17}H_{12}O_7$	257-259	328,3
<b>AFG2</b>	$C_{17}H_{14}O_7$	237-240	330,3
<b>AFM1</b>	$C_{17}H_{12}O_7$	299	328,3
<b>AFM2</b>	$C_{17}H_{14}O_7$	293	330

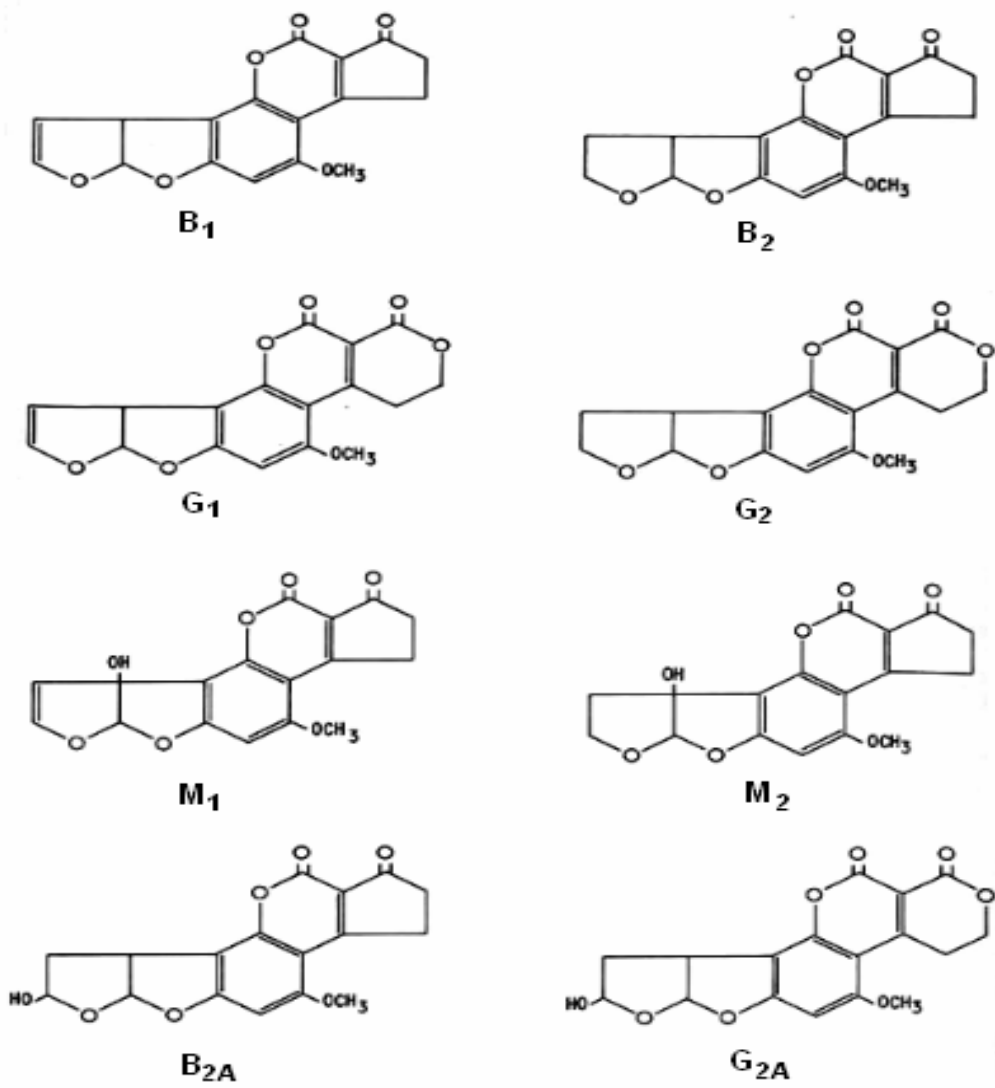


Figure 1: Structures chimiques des aflatoxines

### c) Devenir de l'aflatoxine B1 dans l'organisme.

L'AFB1 est une petite molécule lipophile. Des études réalisées chez le rat ont montré que l'absorption se réalise par diffusion passive au niveau du duodénum et qu'elle est importante puisque plus de 70% des doses administrées par voie orale ont pu être détectées après élimination dans les urines. <sup>[36-37]</sup>

Après son absorption, la forme circulante de l'AFB1 est majoritairement liée à l'albumine par la formation d'une base de SCHIFF entre un résidu lysine et le métabolite Aflatoxine B1-8,9-dihydrodiol.

Cette forme liée à l'albumine sert de bio-traceur des contaminations par les aflatoxines.

Le volume de distribution de l'AFB1 est relativement faible et se limite aux organes impliqués dans le métabolisme et l'élimination des toxiques, essentiellement le foie et les reins. <sup>[38]</sup>

La **phase I** de la métabolisation de l'AFB1 correspond au processus de **bioactivation** par oxydation via des mono-oxygénases à cytochrome P450, elle est principalement réalisée dans le foie mais la muqueuse gastro-intestinale possède aussi les enzymes capables de bioactiver l'AFB1. <sup>[37]</sup>

Le cyp3A4 a une affinité plus modeste, il présente deux sites de liaison pour l'AFB1 et se trouve impliqué dans la formation de l'AFB1 et dans une moindre mesure, dans celle de l'AFB1-8,9-époxyde <sup>[39]</sup>. Toutefois, l'expression prépondérante de Cyp3A4 au niveau hépatique en fait un acteur major de la métabolisation de l'AFB1.

L'O-déméthylation de l'AFB1 conduit à l'aflatoxine P1 (AFP1) qui est ensuite détoxifiée par une UDP-glucuronyl-transférase. L'aflatoxicol est un métabolite issu de la réduction réversible de la fonction cétone en C1 de l'AFB1 via une réductase NADPH dépendante cytosolique. <sup>[40-43]</sup>

La **phase II** du métabolisme correspond à la **détoxification** de l'AFB1-8,9-époxyde. Elle est principalement assurée par une réaction de conjugaison avec le glutathion réalisée par des glutathion S-transférases (GST) sur la fonction époxyde. L'AFB1-8,9-époxyde est aussi

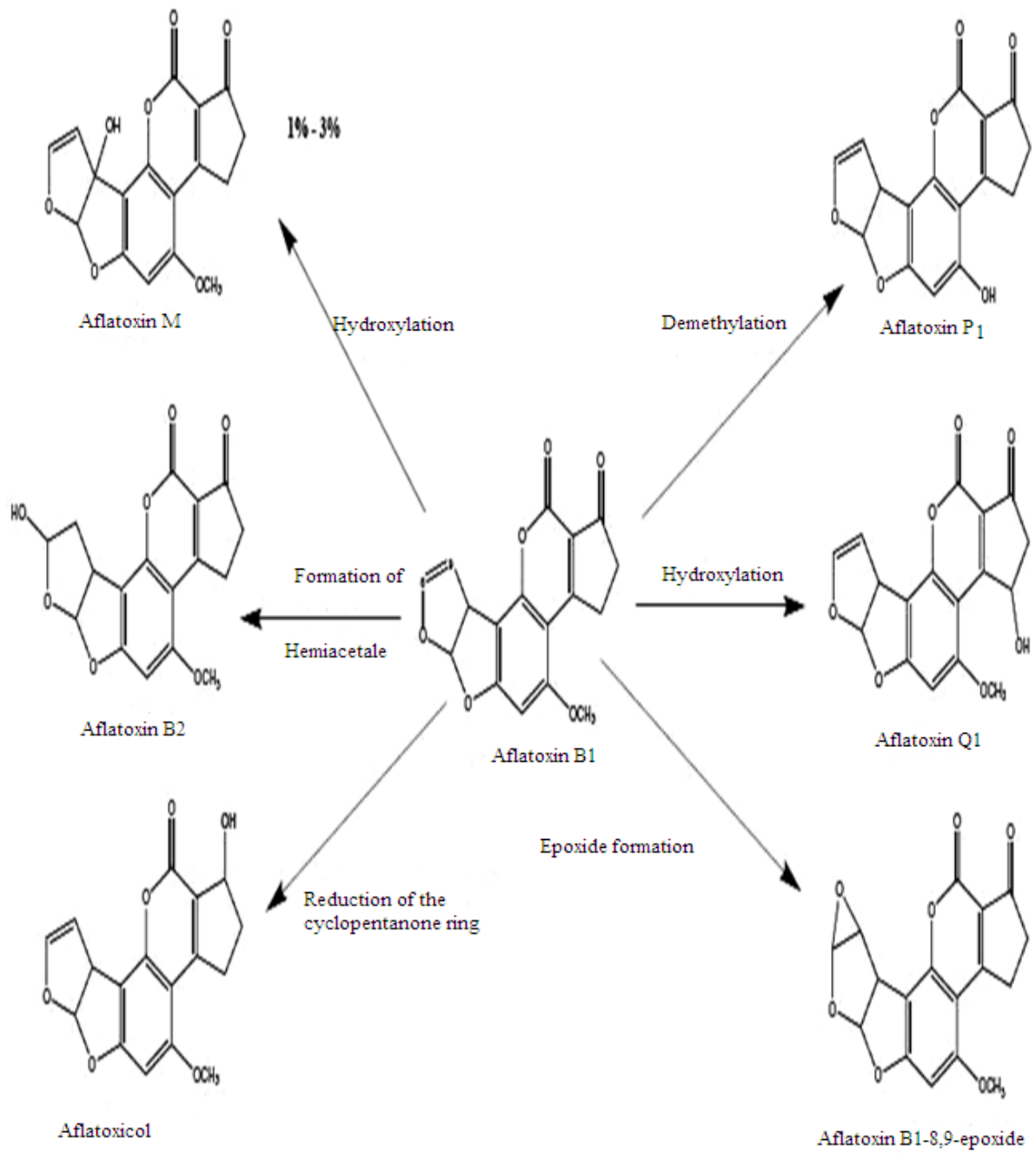
détoxifiée par des époxydes hydrolases conduisant à l'AFB1-dihydrodiol puis à l'AFB1-dialdéhyde ensuite transformé en AFB1-dialcool par l'AFB1-aldéhyde réductase. <sup>[44-45]</sup>

Les glutathion-conjugués et glucurono-conjugués sont éliminés majoritairement dans la bile et aussi dans les urines. Les adduits aflatoxine-guanine sont aussi retrouvés dans les urines et peuvent servir de biotraceur comme les adduits aflatoxine-albumine plasmatiques.

L'AFM1 demeure une molécule toxique et se trouve excrétée dans les urines et aussi dans le lait. Le risque existe alors pour l'homme consommateur de lait de vache ou de ses dérivés, mais aussi pour les jeunes animaux allaités. L'AFM1 pose donc un problème de santé publique, car c'est une substance toxique classée dans le groupe 2B par l'IARC (Centre International de Recherche sur le Cancer) comme un cancérigène potentiel. <sup>[37; 46]</sup>

Les effets des aflatoxines sur la santé animale varient suivant l'espèce. Les animaux comme le veau, le poulet, le caneton, le cobaye et le porc sont sensibles à l'AFB1 que la chèvre, le mouton, le rat et la souris.

L'AFB1 provoque une hépatotoxicité, elle est tératogène, et immunotoxique. Pour être toxique ou mutagène, l'AFB1 doit donc être métabolisée. Elle est transformée en plusieurs métabolites. Pour l'homme, les suggestions d'une relation entre des nourritures fortement contaminées en AF et certaines maladies sont plus récentes.



**Figure 2: Voie métabolique d'AflatoxineB1**

- Métabolisme de l'aflatoxine B1 dans le foie (adapté de Swick 1984 et Neal 1998).

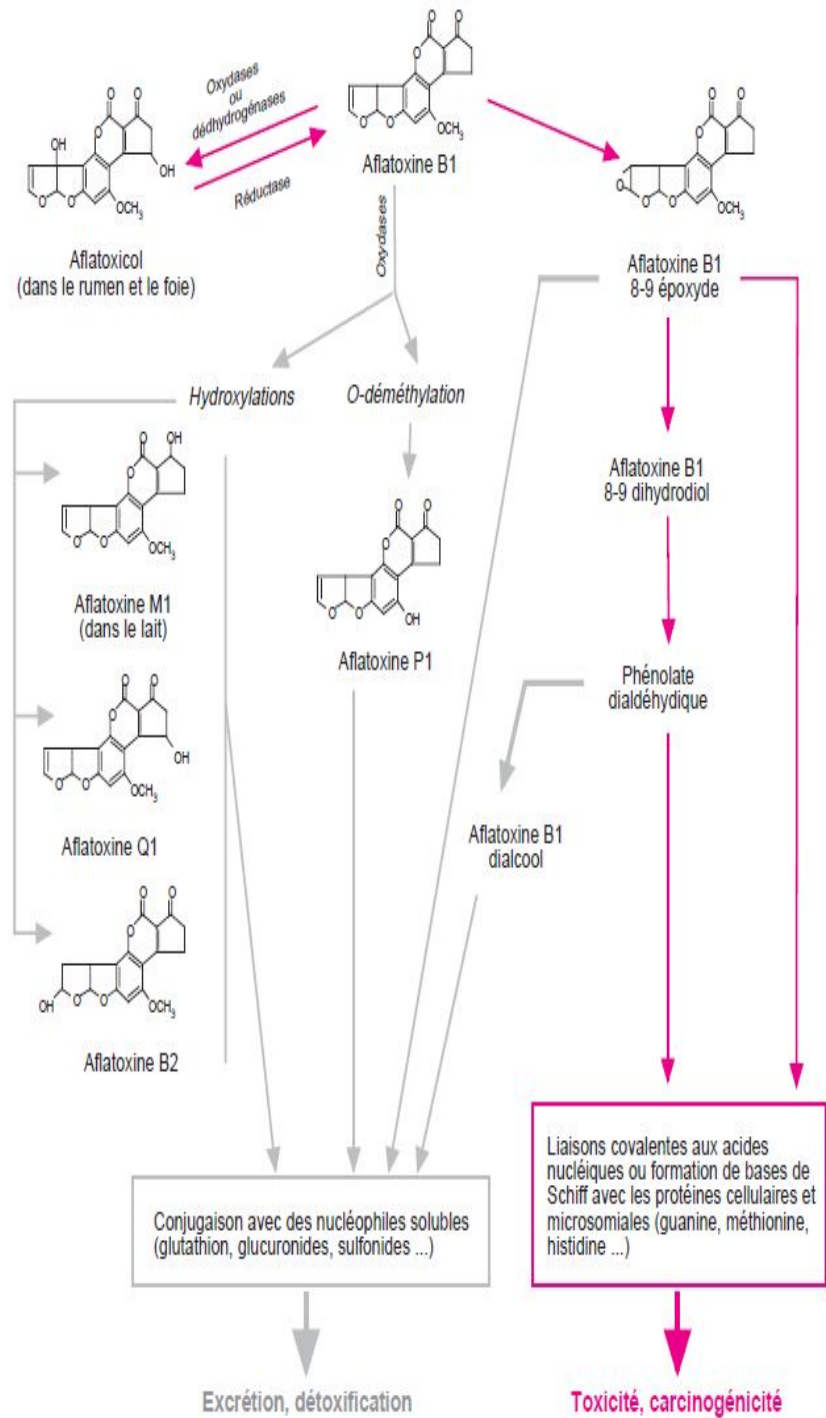


Figure 3: Métabolisme de l'aflatoxine B1 dans le foie. (adapté par Swick 1984 et NEAL 1998)

#### **d) Facteurs influençant la teneur en aflatoxines dans les denrées alimentaires.**

Les conditions les plus favorables pour le développement d'*A. flavus* et la production d'aflatoxines nécessitent une activité en eau ( $A_w$ ) de 0,84-0,86 et une température comprise entre 25 et 40 °C. Ces proliférations fongiques et les productions d'aflatoxine ont lieu au champ et au cours du stockage. Au champ, les insectes attaquent la surface des grains facilitant l'accès de la moisissure aux structures internes qui contiennent les nutriments et représentent ainsi un facteur important de risque. Un tel scénario ne concerne pas seulement les zones tropicales et les cultures d'arachide, mais aussi les zones tempérées lors de saisons exceptionnellement chaudes mais de plus en plus fréquentes pour certaines cultures comme le coton ou le maïs et les ensilages de maïs.

Les aflatoxines sont peu sensibles aux traitements thermiques (stérilisation, pasteurisation, congélation) ou de séchage (déshydratation, lyophilisation). Néanmoins, certains procédés technologiques modifient la teneur initiale en aflatoxines dans la matière première pour aboutir, selon la matrice et le procédé, soit à une quasi élimination, soit au contraire à une concentration de la teneur en aflatoxines dans le produit fini ou l'aliment transformé. Parmi les procédés de transformation du maïs, l'amidonnerie par voie humide réduit la concentration en aflatoxines dans l'amidon au niveau de 1 % de la teneur initiale dans les grains.<sup>[47]</sup>

Le procédé à sec provoque une réduction de la concentration en aflatoxines dans la farine au niveau de 6-10 % de la teneur initiale.

Lors de l'extraction de l'huile, les aflatoxines B et G se retrouvent majoritairement dans les tourteaux (tourteaux de coton, d'arachide...) et minoritairement dans l'huile brute. Les traitements ultérieurs de raffinage de l'huile éliminent les traces d'aflatoxines.

En ce qui concerne les tourteaux destinés à l'alimentation animale, les processus de détoxification par l'ammoniaque associée ou non au formol permettent d'éliminer une partie des aflatoxines.<sup>[47]</sup>

### **e) Effets toxiques chez l'Homme.**

Deux syndromes humains d'intoxication aiguë mais d'étiologies indéfinies ont été reliés à l'ingestion d'aliments contaminés par les aflatoxines : **le Kwashiorkor** et le **syndrome de Reye**.

Le Kwashiorkor associe hypo-albuminémie et immunosuppression. Le syndrome de Reye associe encéphalopathie et dégénérescence graisseuse des viscères. Ces deux syndromes ont été associés à l'aflatoxine car aucune autre cause n'a pu être identifiée et parce que cette mycotoxine a été trouvée chez les patients. Néanmoins ces cas ayant été observés chez des populations en malnutrition, le métabolisme de l'aflatoxine peut être modifié du fait de cet état. La dernière intoxication aiguë reconnue s'est déroulée d'avril à septembre 2004 dans les provinces du centre et de l'est du Kenya durant laquelle 341 cas ont été diagnostiqués et ont été responsables de 123 décès.<sup>[48]</sup>

#### **❖ Toxicité aiguë.**

La toxicité aiguë se caractérise par la dose létale DL50 qui correspond à la concentration capable d'entraîner la mort de la moitié de la population testée. Concernant les aflatoxines, ce type de toxicité est moins fréquent chez l'homme que chez les animaux. Chez le caneton, la DL50 des AFB1, AFB2, AFG1 et AFG2 est respectivement de l'ordre de 0,36, 0,78, 1,70 et 3,44 mg/kg.<sup>[49]</sup>

#### **❖ Toxicité chronique.**

La toxicité chronique des aflatoxines survient après l'ingestion répétée de doses très faibles. Ce type de toxicité peut apparaître aussi bien chez l'Homme que chez l'animal.

La plupart des études épidémiologiques menées dans le Sud-Est asiatique et en Afrique tendent à montrer qu'il existe une corrélation entre une exposition chronique à l'aflatoxine via le régime alimentaire et une prévalence du cancer primitif du foie.

D'après Hussein et Brasel plus de 250 milles décès annuels sont recensés en Chine et en Afrique subsaharienne et qui sont causés par des carcinomes hépatocellulaires.

Néanmoins, cette relation est modulée par d'autres facteurs qui influencent ce risque de cancer comme l'infection virale à l'hépatite B (HBV).<sup>[49]</sup>

La virulence des aflatoxines chez des individus porteurs du VHB est nettement plus élevée que chez ceux qui ne le sont pas<sup>[50]</sup>. L'AFB1 et le VHB peuvent agir en synergie, l'infection par le VHB induit les enzymes activatrices de l'aflatoxine en augmentant son pouvoir cancérigène potentiel. <sup>[51]</sup>

- ***Génotoxicité***

Les aflatoxines provoquent différentes lésions de l'ADN : aberrations chromosomiques, formation de micro-noyaux, échange de chromatides sœurs, cassures de chromosomes, modification de la synthèse d'ADN <sup>[52]</sup>. Ces effets sont principalement liés à l'action toxique des époxydes formés par l'action du système enzymatique réactionnel des mono-oxygénases à cytochromes P450.

C'est la fonction exoépoxyde qui est le site hautement réactionnel de l'AFB1-8,9- époxyde conduisant à la formation d'adduits à l'ADN en position N7 de la guanine. Cet adduit est instable, il conduit à une dépurination et donc à la modification du cadre de lecture.

L'AFB1-8,9-époxyde peut aussi se lier à des protéines (protéines nucléaires, liaison aux histones H3) et en modifier la structure et les fonctions comme l'altération du transport des électrons et de la respiration cellulaire (cytochromes b et c). <sup>[43 ;53]</sup>

La liaison de l'AFB1 8,9-époxyde aux protéines portant une séquence de translocation nucléaire (sur les résidus de lysine) aggraverait les effets toxiques de la molécule en facilitant le transport à proximité de l'ADN. La liaison aux protéines cytosoliques, non transloquées vers le noyau ou les mitochondries, formerait un stock d'AFB1 potentiellement toxiques<sup>[54]</sup>. Les publications portant sur les effets carcinogènes des aflatoxines discutent surtout de l'importance de l'AFB1 8,9-époxyde, mais il est important de préciser que les formes époxydes des AFG1 et AFM1 et de l'aflatoxicol conduisent aussi à la formation d'adduit à l'ADN. <sup>[55]</sup>

- ***Hépatotoxicité***

En raison de ses capacités de bioactivation, le foie est l'organe cible principal des aflatoxines. La principale conséquence d'une intoxication grave par les aflatoxines est la nécrose hépatique qui se traduit par une forte augmentation des transaminases plasmatiques. Cette nécrose est associée à une infiltration de cellules inflammatoires. La réduction du nombre d'hépatocytes et leur dysfonctionnement provoquent une stéatose et une choléstase avec l'augmentation des taux plasmatiques en bilirubine, phosphatases alcalines (PAL) et  $\gamma$ -glutamyl transférase ( $\gamma$ -GT), ce qui entraîne une apparition et une prolifération des canalicules biliaires et le développement d'une fibrose hépatique.

Des études expérimentales ont démontré la grande variation de sensibilité des espèces animales à l'AFB1, la souris étant une espèce relativement résistante aux aflatoxines en comparaison avec le rat, le lapin ou le porc. La sensibilité entre les individus d'une même espèce est également variable.<sup>[54 ; 52]</sup>

L'exposition à l'AFB1 peut aboutir à un cancer hépatique surtout lorsqu'elle est associée à une infection par le virus de l'hépatite B ou de l'hépatite C. Une interaction synergique significative entre ces deux hépatocarcinogènes a été démontrée.<sup>[56-57]</sup>

Chez l'Homme, des études conduites sur des suppresseurs de tumeur p53 (codon 249) dans un cas sur deux de carcinome hépatocellulaire associé à une exposition aux aflatoxines. Cette mutation est une délétion qui modifie le cadre de lecture de ce gène suppresseur de tumeur, l'inactive et augmente la possibilité d'activation d'oncogènes.

D'autres études réalisées aussi en Afrique ont aussi établi que le risque de cancer hépatique est associé au cumul des expositions aux aflatoxines.<sup>[53];[58-60].</sup>

- ***Immunotoxicité***

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

l'immunité à médiation humorale s'observe pour des expositions plus élevées, variables d'une espèce animale à l'autre.<sup>[61- 63]</sup>

Les effets immunosuppresseurs de l'AFB1 semblent dus à l'altération de la synthèse d'acides nucléiques et de protéines avec diminution de la prolifération, de la maturation cellulaire et de la production des cytokines. La réactivation d'infections parasitaires et la diminution de l'efficacité vaccinale ont été mises en évidence expérimentalement sur plusieurs modèles d'animaux après administration d'AFB1 (lapin, souris, porc,), mais pas chez le poulet et la dinde vaccinés contre la maladie de Newcastle.<sup>[64-68]</sup>

- ***Hématotoxicité***

L'AFB1 exerce des effets hématotoxiques secondaires se caractérisant par des altérations dans les fonctions de la moelle osseuse (une myélotoxicité qui affecte les lignées des granulocytes et des monocytes) et l'anémie consécutive à une aflatoxicose serait due à une aplasie médullaire et une hémolyse mais aussi à une diminution de l'absorption du fer. L'altération des fonctions hépatiques conduit à la diminution de la synthèse des facteurs de coagulation et des troubles de l'hémostase.<sup>[69]</sup>

## **f) Valeurs toxiques de référence.**

L'AFB1 et le mélange des aflatoxines sont reconnus cancérigènes pour l'Homme, et l'AFM1 est reconnue comme cancérigène chez l'animal, mais les preuves sont encore insuffisantes chez l'Homme.

Les teneurs maximales admises varient, suivant la mycotoxine et l'aliment considéré. La commission européenne a limité la teneur en aflatoxines totales (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2) à **4 µg/kg**, l'AFB1 seule à **2 µg/kg** dans les noix, les fruits secs, les céréales prêtes à la vente, et l'AFM1 à **0.05 µg/kg** dans le lait.

Pour les produits qui doivent subir un procédé industriel, la limite légale établie correspond à **8 µg/kg** et à **15 µg/kg** respectivement d'AFB1 et des aflatoxines totales.

Le métabolisme de l'AFB1 libère l'AFM1 dans le lait des mammifères. Leur pouvoir cancérigène puissant et leur présence dans l'alimentation pour bébés ont contribué à instaurer des limites très strictes (**50 ng.L<sup>-1</sup>**).

Aux USA, les teneurs admissibles sont 5 fois plus grandes que celle établies en Europe.

## **2. Les ochratoxines.**

### **a Définition.**

Les ochratoxines A, B et C sont des métabolites de diverses moisissures des genres *Aspergillus* (*A. ochraceus*, *A. carbonarius*, *A. niger*, etc.) et *Penicillium* (*P. verrucosum*, *P. nordicum*). Ces mycotoxines sont plus fréquemment rencontrées sur le continent américain et en Europe occidentale. Parmi ces ochratoxines, l'ochratoxine A (OTA) représente un risque de toxicité notamment pour le rein, et c'est la seule qui sera traitée.

L'OTA a été isolée pour la première fois à partir d'*Aspergillus ochraceus* en 1965, elle a été identifiée dans les conditions naturelles, aux USA, en 1969, dans un échantillon de maïs. Son développement a lieu au cours du stockage lorsque les conditions de conservation sont mauvaises.<sup>[70]</sup>

La production des ochratoxines par les espèces d'*Aspergillus* ne paraît possible que dans des conditions de forte humidité et de température élevée <sup>[71]</sup> alors que certaines espèces de *Penicillium* sont capables de produire des ochratoxines même à des températures n'excédant pas 5°C <sup>[72]</sup>. C'est pour cette raison que la présence d'OTA a été détectée dans de nombreux produits agricoles de différentes régions du monde <sup>[73]</sup>. L'ochratoxine A est un contaminant fréquent des céréales, du café, des noix, du poivre, des fruits secs, du jus de raisins, de la bière et des abats des animaux. <sup>[74]</sup>

### **b Propriétés physico-chimiques.**

La formule brute de l'ochratoxine A est C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>ClNO<sub>6</sub>.<sup>[75]</sup> Elle s'agit de

7-carboxy-5-chloro-8-hydroxy-3,4dihydro-3R-méthylisocoumarine-7-L-βphénylalanine. Il existe d'autres ochratoxines comme l'OTB qui est le dérivé non chloré de l'OTA et l'OTC

qui est son ester éthylique. Structuellement les trois ochratoxines diffèrent très légèrement les unes des autres, cependant ces différences ont des effets marqués sur leur potentiel toxique respectif. Leurs structures sont présentées dans la figure n° 4. <sup>[76]</sup>

L'OTA est un solide blanc de masse molaire 403,08 g/mole, ayant un point de fusion de 169°C lorsqu'elle est cristallisée dans du xylène ; et 94-96°C dans le benzène.

Son spectre d'absorption UV varie avec le pH et la polarité du solvant. L'OTA possède un maximum d'absorption à 333 nm <sup>[76]</sup>. Il s'agit d'un acide organique faible ayant un pKa de 7,1 et un pH acide ou neutre. L'ochratoxine A est soluble dans les solvants organiques polaires et très peu soluble dans l'eau. A un pH alcalin, elle devient soluble et stable en solution aqueuse. <sup>[77]</sup>

En raison de sa structure, l'OTA se révèle stable au stockage et résiste généralement aux procédés industriels de la transformation. <sup>[78]</sup>

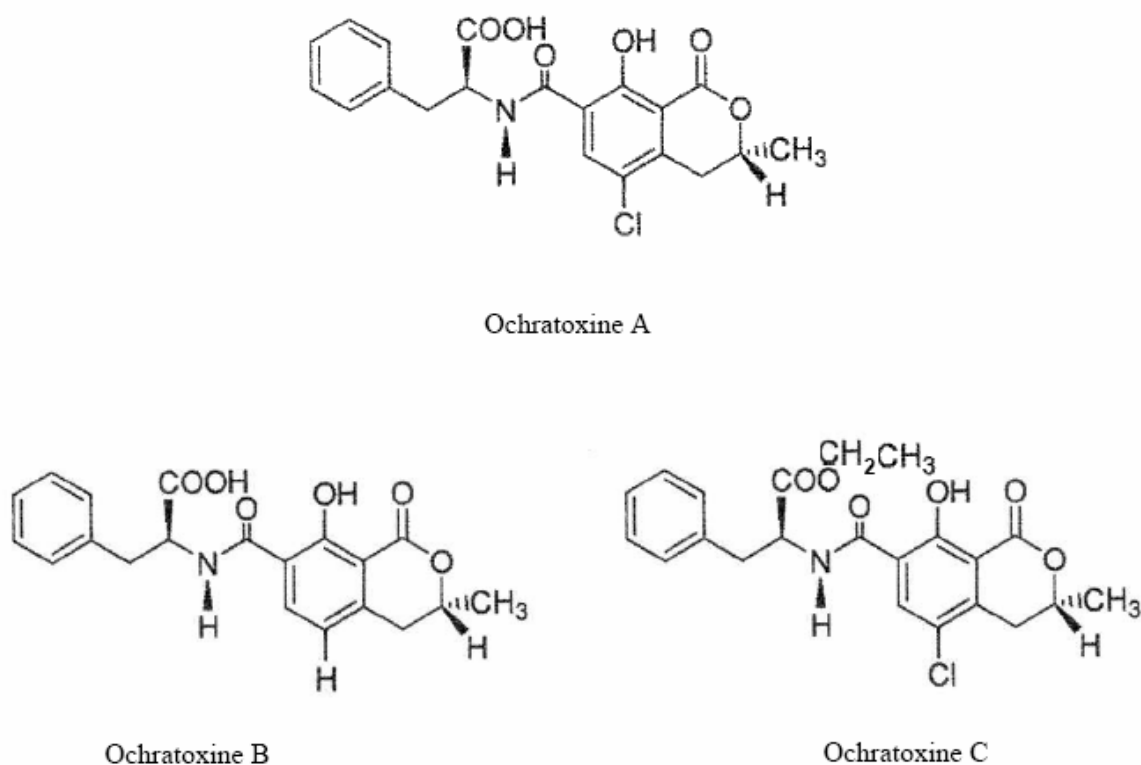


Figure 4 : Structure chimique des ochratoxines A, B et C.

### **c Devenir de l'ochratoxine A dans l'organisme.**

Le devenir de l'OTA dans l'organisme implique son absorption, sa distribution dans les tissus et les organes, les voies de sa biotransformation ainsi que son excrétion.

L'OTA est absorbée tout d'abord au niveau de l'estomac en raison de ses propriétés acides. Les groupements hydroxyle et carboxylique jouent un rôle important dans la mesure où, pour un pH bas, la forme non ionisée favorise l'absorption de l'OTA. L'OTA est aussi absorbée dans l'intestin grêle au niveau du jéjunum proximal<sup>[79]</sup>. Une fois absorbée, l'OTA est distribuée aux différents organes via le système porte et le foie. Chez l'animal, l'OTA s'accumule abondamment dans les reins et elle a de moindre ampleur au niveau d'autres organes (foie, muscle, tissus adipeux et cerveau) <sup>[80]</sup>. L'OTA possède une très grande affinité pour certaines protéines plasmatiques, en particulier l'albumine sérique, ce qui constitue une réserve mobile de la toxine et prolonge sa demi-vie plasmatique en contribuant aux effets toxiques chroniques. <sup>[81]</sup>

De plus, l'OTA possède un cycle entéro-hépatique responsable en partie de sa longue demi-vie dans l'organisme <sup>[82]</sup>. Chez les humains, l'OTA possède la plus longue demi-vie dans le plasma qui est estimée à un mois. <sup>[83]</sup>

Par ailleurs, l'OTA se biotransforme principalement par l'hydrolyse de la liaison peptidique ou bien par des réactions de métabolisation durant deux phases : phase I (fonctionnalisation ou bioactivation) et phase II (conjugaison). La Figure n°5 illustre la biotransformation que peut subir l'OTA.

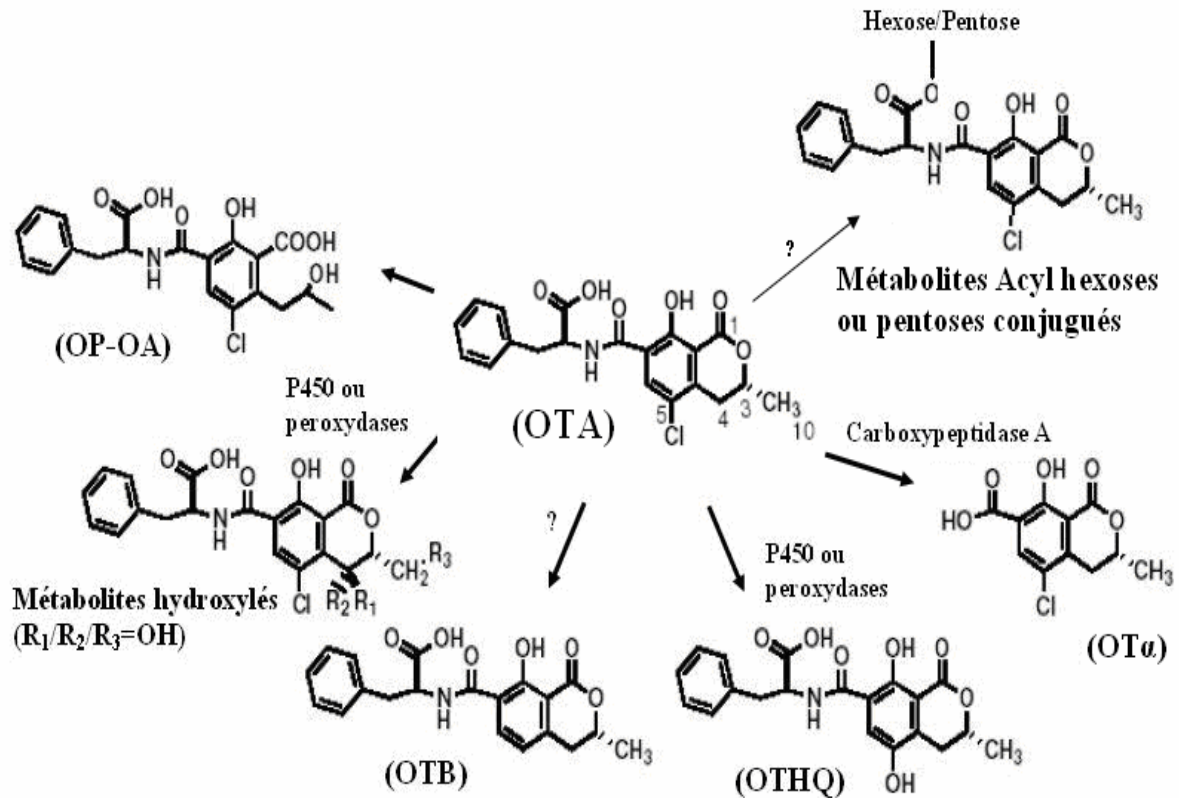
D'une part, l'OTA est hydrolysée en OT $\alpha$  non toxique par la carboxypeptidase A et la chymotrypsine ainsi que par les microorganismes du tube digestif. Cette détoxification réduit le risque de contamination par l'OTA des produits issus des animaux. En revanche, un dérivé lactone de l'OTA, l' OPOTA, a été obtenu par hydrolyse de l'OTA en solution basique (NaOH 0.5 N) <sup>[84]</sup>. Ce métabolite est hautement toxique et sa clairance est beaucoup plus lente que celle de l'OTA et l'OT $\alpha$ . <sup>[85]</sup>

D'autre part, l'OTA est hydroxylée au niveau hépatique par le système microsomal des mono-oxygénases à cytochrome P450 chez différentes espèces <sup>[86]</sup>. L'OTA se transforme en métabolites mineurs non toxiques comme les 4R- et 4S-hydroxyochratoxine A (4-OH-OTA) <sup>[87]</sup> et la 10-hydroxyochratoxine A. <sup>[88]</sup>

L'OTA peut être aussi métabolisée en un dérivé déchloriné, l'OTB, qui est moins toxique que l'OTA aussi bien in vivo qu'in vitro. <sup>[89-90]</sup>

Cependant, des dérivés très réactifs tels que l'O-CH<sub>3</sub>-OTA et les dérivés quinones OTAQ/OTAHQ issus de l'oxydation chimique et enzymatique (essentiellement par le système microsomal à cytochrome P450) sont impliqués dans la toxicité de l'OTA par induction de stress oxydant. <sup>[91-92]</sup>

En ce qui concerne les réactions de détoxification, l'OTA subit essentiellement au niveau du foie des glucurono- et sulfoconjuguaisons par l'uridine-diphosphate glucuronosyltransférase et la sulfo-transférase respectivement<sup>[85]</sup>. L'OTA peut être aussi détoxifiée par conjugaison au glutathion réduit (GSH) catalysée par des enzymes cytosoliques comme les glutathion-S-transférases. <sup>[92]</sup>



**Figure 5. : Schéma de la métabolisation de l'ochratoxine A (Pfohl-Leszkowicz & Manderville, 2007).**

Quant à l'excrétion de l'OTA, les voies urinaire et biliaire jouent un rôle très important dans la clairance plasmatique de l'OTA. Cette toxine est éliminée très lentement de l'organisme chez certaines espèces animales, alors que ses métabolites sont éliminés beaucoup plus rapidement. En général, l'OTA et l'OTα sont excrétées dans les urines chez le rat alors que l'OH-OTA est excrétée dans la bile.

La réabsorption de l'OTA ralentit son excrétion et explique son accumulation au niveau du tissu rénal et par conséquent sa néphrotoxicité<sup>[93]</sup>. En outre, l'excrétion lactée semble être une voie d'élimination relativement efficace chez les mammifères<sup>[94]</sup>. L'OTA s'est révélée présente dans le lait humain en corrélation avec la contamination des denrées alimentaires.<sup>[95]</sup>

Chez les animaux, la concentration de la toxine et ses métabolites dans les tissus et le plasma dépend des espèces animales, de la dose administrée, de la forme de l'OTA administrée

(cristallin ou naturel en alimentation), la composition en régime aussi bien que l'état de Santé de l'animal. Ces facteurs sont importants pour évaluer l'occurrence des résidus de la toxine dans les tissus d'animaux. Généralement, la demi-vie d'élimination d'OTA est plus longue dans le sang que dans les tissus. Ceci est dû probablement en partie, à l'affinité plus élevée de la toxine aux protéines de sang.<sup>[96-97][85]</sup> En plus des tissus, l'OTA a été trouvé dans le cerveau, le cervelet, le mésencéphale ventral, le striatum et l'hippocampe des rats mâles, à un pourcentage de 0,002-0,028% de la dose administrée qui est de 289g d'OTA/Kg/jour pendant 8 jours administrés par l'intubation gastrique<sup>[98]</sup>.

Chez l'Homme, Zimmerli et Dick<sup>[99]</sup> ont rapporté que la concentration d'OTA dans le sérum fœtal est deux fois plus supérieure à la concentration d'OTA dans le sérum maternel, de ce fait indiquant un transfert placentaire actif de l'OTA.

L'OTA est un composé toxique cumulatif avec une absorption relativement rapide et une élimination lente. Chez toutes les espèces, l'excrétion fécale et urinaire jouent des rôles importants dans l'épuration de la toxine du plasma<sup>[100-101]</sup>. La contribution relative de chaque système d'excrétion est influencée par la voie de l'administration, la dose, le degré de liaison avec les protéines plasmatiques et la circulation entérohépatique d'OTA. En plus des voies d'excrétion rénale et fécale, l'excrétion mammaire du lait semble être relativement importante<sup>[93]</sup>.

#### **d Facteurs influençant la teneur en ochratoxine dans les denrées alimentaires.**

##### ▪ *Moisissures toxigènes.*

*Aspergillus ochraceus* est décrit comme étant mésophile xérotolérant. Sa croissance est observée entre 8 et 37 °C avec un maximum entre 24 et 31 °C. Les conditions d'activité en eau les plus favorables sont toutefois de l'ordre de 0,95 à 0,99  $A_w$ .<sup>[102]</sup>

*A. ochraceus* est retrouvé dans divers produits alimentaires d'origine végétale comme les produits secs (haricots secs, graines de soja, épices, olives, fruits secs, noix de pécan, pistaches, cacahuètes et noisettes) et dans les céréales (riz, avoine, maïs).

*A. ochraceus* a aussi été retrouvé dans des produits d'origine animale comme des fromages, salaisons, poissons ou viande séchés.

*Penicillium verrucosum* croît lentement en présence d'activité en eau faible ( $A_w < 0,80$ ) et à basse température (entre 0 et 31 °C, avec un maximum à 20 °C). Il est confiné aux zones tempérées ou froides.

*A. carbonarius* est la principale origine d'OTA dans les vignobles français, alors qu'en Espagne et en Italie, *A. niger* participerait aussi, à un niveau relativement faible, à la production de l'OTA

Les *Penicillium* se développent au cours de la maturation du raisin, cependant ils n'ont aucune incidence sur la production de l'OTA.<sup>[102]</sup>

▪ ***Effet des pratiques utilisées lors de la production et du stockage de produits agricoles.***

La présence d'OTA sur les grains de céréales est due à une humidité trop importante lors du stockage. Pendant la durée du stockage, la teneur en eau dépend du taux d'humidité à la mise en silo et de la température du lot. Dans le cas où le taux d'humidité des grains est supérieur à 18 % (maïs et sorgho récoltés en général autour de 24 % d'humidité, céréales à paille certaines années très humides), il y a lieu de procéder à un séchage.

Dans le café, l'OTA est formée essentiellement pendant le stockage des grains. Les pratiques agricoles ont peu d'influence sur la concentration en OTA dans les grains.

La maîtrise de la contamination est basée sur de bonnes pratiques de stockage incluant un séchage rapide.<sup>[102]</sup>

### **e Occurrence de l'OTA dans les aliments au Maroc.**

Au Maroc, les investigations relatives aux mycotoxines en général et à l'OTA en particulier restent assez limitées. Selon Le *Tutouret al.* (1983), l'analyse de 70 échantillons de blé prélevés dans différents points de vente par chromatographie surcouche mince (CCM), a montré qu'un seul échantillon s'est révélé contaminé par l'OTA à une concentration de 50 µg/kg. Plus tard, dans un travail soutenu par la Direction de la Répression des Fraudes et la

Protection des Végétaux, 3 échantillons d'orge sur 75 échantillons analysés contenaient de l'OTA. <sup>[103]</sup>

Récemment, des études préliminaires menées par Filali *et al.* <sup>[104]</sup> ont montré la contamination du vin rouge par de l'OTA avec des concentrations allant de 0,028 à 3,24 µg/l et la contamination d'un jus de fruit par une concentration de 1,16 µg/l d'OTA.

L'analyse de l'OTA dans le sérum a montré que la population marocaine est exposée à l'OTA quoique la concentration moyenne (0,29 µg/l) reste très inférieure à celle trouvée dans d'autres pays de l'Afrique du Nord en particulier la Tunisie. <sup>[105]</sup>

## **f Effets toxiques des ochratoxines.**

La toxicité de l'OTA est due à sa structure chimique : son atome de chlore et son groupement phénolique, ainsi que sa partie isocoumarinique jouent un rôle important. <sup>[84]</sup>

### ***i. Toxicité aiguë.***

La toxicité de l'OTA est très variable chez l'animal. Elle dépend de l'espèce, du sexe et de la voie d'administration <sup>[106]</sup>. L'exposition des animaux à l'OTA se traduit, d'un point de vue économique, par des pertes importantes au niveau de la production. A titre d'exemple, on note chez les poules une réduction de la ponte accompagnée d'une baisse de la prise d'aliments. <sup>[107]</sup>

### ***ii. Toxicité chronique.***

Les effets chroniques de l'OTA sont fréquents. Cette toxine s'est avérée néphrotoxique, hépatotoxique, tératogène et immunotoxique chez plusieurs espèces animales <sup>[108-109]</sup> et cancérigène chez la souris et le rat induisant des tumeurs rénales et hépatiques <sup>[110-111]</sup>.

Chez les animaux atteints de néphropathie, les reins deviennent pâles et augmentent considérablement de taille <sup>[112]</sup>.

En outre, l'OTA est considérée comme un cancérigène rénal suite à une exposition à long terme. Elle a été classée dans le groupe 2B « cancérigène possible pour l'homme » par l'Agence Internationale pour la Recherche sur le Cancer. <sup>[113]</sup>

L'implication de l'OTA dans le développement de différents types de cancer à savoir les adénocarcinomes rénaux, le cancer des testicules et les tumeurs hépatiques a été rapporté chez le rat, la souris mais aussi chez l'homme. <sup>[114]</sup>

- **Néphrotoxicité**

Le rein constitue l'organe cible principal des effets toxiques induits par l'OTA. Cette toxine est potentiellement néphrotoxique chez toutes les espèces étudiées <sup>[100]</sup>, à l'exception des ruminants adultes. <sup>[115]</sup>

Chez l'animal, une néphropathie porcine et aviaire a été associée à une contamination de l'alimentation animale par l'OTA <sup>[116]</sup>. Des lésions rénales chez le poulet ont aussi été observées suite à l'ingestion de cette mycotoxine <sup>[117]</sup>

Plusieurs investigations ont rapporté l'implication de l'OTA dans des néphropathies humaines telles que la Néphropathie Endémique des Balkanes (NEB) <sup>[118]</sup> et la néphropathie interstitielle chronique en Afrique du Nord <sup>[119-121] ; [77]</sup> ainsi que dans les tumeurs du tractus urinaire. <sup>[122]</sup>

La NEB est une néphropathie interstitielle chronique diagnostiquée chez les adultes avec une prédominance chez les femmes. La pathologie évolue lentement et souvent de façon asymptomatique pour atteindre l'insuffisance rénale. Les premiers stades de la NEB sont caractérisés par une protéinurie, une glycosurie, une anémie et une altération de la capacité à concentrer l'urine. Dans les stades les plus avancés, les reins apparaissent atrophiés et leur poids diminue dramatiquement. Les caractéristiques pathologiques incluent une fibrose du tissu interstitiel, une atrophie et une sclérose corticale, accompagnées d'une dégénérescence cellulaire du tube proximal et des lésions vasculaires et glomérulaires <sup>[123]</sup>.

La NEB est associée à une fréquente augmentation des tumeurs du tractus urinaire chez les patients néphropathes. <sup>[124]</sup>

- **Hépatotoxicité.**

L'OTA a également pour cible le foie où elle sera biotransformée et détoxifiée. L'OTA s'est montrée hépatotoxique aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. <sup>[125-127]</sup>

Au niveau des mitochondries hépatiques, l'OTA inhibe compétitivement la cytochrome C oxydase, la succinate déshydrogénase et l'ATPase <sup>[128]</sup>. L'hépatotoxicité induite par l'OTA semble être aussi due à l'altération de la balance oxydo-réductrice.<sup>[127]</sup>

L'administration orale de l'OTA à des souris augmente l'incidence de la tumeur hépatique<sup>[129]</sup>.

- **Neurotoxicité.**

Le système nerveux central semble être très sensible aux effets délétères de l'OTA. Plusieurs études ont mis en évidence les effets neurotoxiques de l'OTA chez la souris, le rat et le lapin <sup>[130-132]</sup>. En effet, les nouveaux nés (rat, souris) exposés, *in utero*, à l'OTA montrent une microcéphalie ainsi qu'une modification des niveaux d'acides aminés libres au niveau du cerveau <sup>[130]</sup>.

L'OTA peut également provoquer des perturbations neurochimiques telle que la réduction des niveaux de dopamine <sup>[132]</sup>.

- **Immunotoxicité.**

De nombreuses études ont montré que l'OTA est un puissant immunosuppresseur *in vitro* et *in vivo* <sup>[133]</sup>. L'OTA peut inhiber la prolifération des lymphocytes périphériques T et B, abolir la production d'interleukine 2 et de ses récepteurs <sup>[134]</sup>, diminuer la production d'anticorps (IgG, IgM, IgA) et supprimer l'activité de cellules tueuses et la production d'interféron. <sup>[135,136]</sup>

En revanche, l'OTA semble exercer un effet immunostimulateur par l'induction des cytokines (médiateurs pro-inflammatoires) tel que le TNF $\alpha$  (Facteur de nécrose de tumeur) hépatique <sup>[137]</sup>.

- **Tératogénicité.**

L'OTA peut traverser le placenta et provoquer des anomalies morphologiques variées chez les embryons de rat, souris, hamster, porc et poulet. Les mécanismes de la tératogénicité induite par l'OTA chez l'Homme ne sont pas encore clairement définis. Elle semble être liée à une

action indirecte de l'OTA sur la mère, et à un effet direct sur le développement embryonnaire. [138]

L'OTA est tératogène chez l'animal par induction d'anomalies diverses y compris une mortalité fœtale, une perte de poids des fœtus, des retards de croissance et des anomalies des viscères et du squelette touchant en particulier les membres et le cou. [139]

### **g Valeurs toxicologiques de référence.**

Le JECFA a confirmé en 2001 la Dose Hebdomadaire Tolérable Provisoire (DHTP) pour l'homme égale à 0,1 micro g/kg-pc /semaine. [11]

(kg-pc : kilogramme de poids corporel)

## **3. Trichothécènes**

### **a. Définition.**

Les trichothécènes constituent un groupe de métabolites secondaires produits par de nombreuses espèces du genre *Fusarium*, en particulier *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae* et *F. sporotrichioides*, [140]

Plus de 160 trichothécènes ont été identifiés, notamment le déoxynivalénol (DON), le nivalénol (NIV), la toxine T-2, la toxine HT-2, le diacétoxyscirpénol (DAS) et la fusarénone X (FX). Le trichothécène le plus fréquemment retrouvé est le DON. [141]

Cette mycotoxine contamine les céréales en particulier le blé, l'orge, le maïs, le seigle, l'avoine, et le riz [1]. L'occurrence de la toxine DON est associée principalement avec *F. graminearum* et *F. culmorum* [142].

L'administration d'une dose aiguë est caractérisée par deux effets toxicologiques à savoir la perte de l'appétit et les vomissements.

La toxine T-2 est un inhibiteur potentiel de la synthèse protéique. Alors que la toxine HT-2 a pour cible le système immunitaire. Ces deux toxines sont produites sur les céréales (blé, orge, maïs, riz, avoine...) et les produits à base de céréales [142].

Les trichothécènes sont thermostables ; on peut donc les retrouver dans des produits finis comme la farine, le pain, les gâteaux secs ou les pâtes<sup>[141]</sup>.

### **b. Propriétés physico-chimiques.**

Les trichothécènes appartiennent au groupe des sesquiterpènes qui possèdent un squelette tricyclique formé par un cyclopentane, un cyclohexane, un cycle à six chaînons oxygénés et quatre groupements méthyles. Ce squelette est appelé trichothécane. Tous les trichothécènes naturels possèdent une double liaison (ou pont oléfinique) en C9, 10 ainsi qu'un groupement époxyde entre C12,13 qui leurs confère une toxicité<sup>[143]</sup>.

Ueno, (1977) a proposé une classification des trichothécènes en 4 groupes en fonction de la position du carbone :

- **Groupe A** : constitué par les trichothécènes qui n'ont pas de fonction cétone en C8. Les plus importants sont la toxine T-2, la toxine HT-2 et le diacétoxyscirpénol (DAS)
- **Groupe B** : constitué par les trichothécènes ayant une fonction cétone en C8. Les plus importants sont le déoxynivalénol (DON) et ses formes acétylées, le nivalénol (NIV), et la fusarénone-X (FX) ;
- **Groupe C** : constitué par les trichothécènes ayant un époxyde supplémentaire en C7 comme la crotocine ;
- **Groupe D** : constitué par les trichothécènes ayant un macrocycle entre C4 et C15. Les plus importants sont les verrucarines, les roridines et les satratoxines.

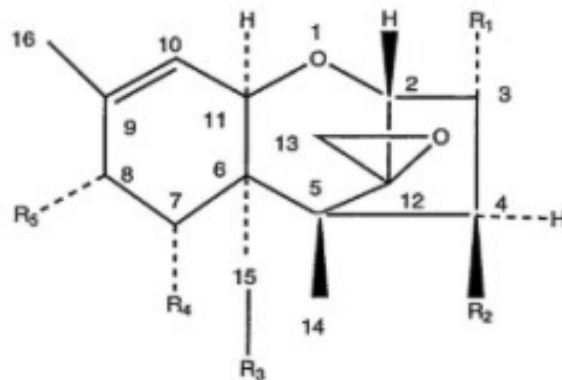


Figure 6 : Structure chimique générale des principaux trichothécènes des groupes A et B.

Tableau V: Principaux trichothécènes

	R1	R2	R3	R4	R5
<b>Toxine T-2</b>	OH	CH3COO-	CH3COO-	H	(CH3)2CHCH2COO
<b>DAS</b>	OH	CH3COO-	CH3COO-	H	H
<b>DON</b>	OH	H2	OH	OH	O
<b>NIV</b>	OH	OH	OH	OH	O

### c. Facteurs influençant la teneur en trichothécènes dans les denrées alimentaires.

Les données disponibles portent principalement sur le DON.

**Au champ**, il peut y avoir une relation entre le développement de certains *Fusarium* et la teneur en trichothécènes. La teneur en DON du blé tendre et des autres céréales est principalement sous la dépendance du climat, à savoir la pluie au moment de la floraison et accessoirement dans les semaines qui suivent. D'autres facteurs, que l'on peut qualifier de « secondaires » peuvent moduler l'effet du climat. Parmi ces facteurs, on peut citer la présence de reliquats (tige, feuilles, ...) de la récolte précédente, contaminés par les *Fusarium* (celle-ci est liée à la rotation culturale et au travail du sol), la sensibilité à la fusariose de la variété de céréale cultivée ou la protection phytosanitaire utilisée.<sup>[144]</sup>

À côté de ces facteurs figurent des facteurs de variations **péri- et post-récolte**, parmi eux, on peut citer la qualité du nettoyage des grains et les conditions de pré-séchage du maïs.

Lors du stockage des céréales, l'humidité des lots est en général trop faible pour le développement des *Fusarium* et la production de trichothécènes.

Une exception concerne le stockage du maïs en cribs, installation qui maintient longtemps les épis dans des conditions de forte humidité.

La première étape des procédés technologiques est le nettoyage des grains qui permet de réduire la teneur en trichothécènes, l'essentiel de la contamination restant dans les « issues de nettoyage ».

L'amidonnerie de maïs a la particularité de comporter une phase de trempage qui solubilise certains trichothécènes comme le DON. Dans ces conditions, leurs teneurs dans le gluten et l'amidon sont plus faibles.<sup>[144]</sup>

#### **d. Devenir et propriétés toxicologiques.**

La plupart des études toxicologiques ont été réalisées sur la toxine T-2. Cependant, on estime que la toxicité de HT-2 est équivalente à celle de la T-2. Chez l'animal, la toxine T-2, injectée dans la lumière intestinale, passe rapidement dans le sang et se trouve métabolisée sous forme de toxine HT-2. Elle est ensuite distribuée dans l'organisme où elle se localise préférentiellement dans les reins, le foie, la rate et la graisse. Elle traverse la barrière placentaire et peut se retrouver dans le thymus et la rate du fœtus. Elle est excrétée par l'urine, la bile et les fèces.

Les effets observés lors d'étude de la toxicité aiguë chez l'animal concernent principalement des symptômes non spécifiques comme la perte de poids, des dermatites, des vomissements, des diarrhées, des hémorragies et des nécroses de l'épithélium gastrique et intestinal et de la moelle osseuse, de la rate, des testicules et des ovaires. L'organe cible de la toxicité de la toxine T-2, après exposition à une ou plusieurs doses dans les études de toxicité aiguë, est le tissu hématopoïétique, au sein de la moelle osseuse.

### ➤ *Trichothécènes du groupe A*

Dans les études de toxicité chronique et de cancérogenèse, des lésions de l'œsophage ont été rapportées chez la souris et le rat ; une augmentation de l'incidence des adénomes pulmonaires et hépatocellulaires et une hyperplasie de l'épithélium gastrique dose-dépendante ont également été décrites aux plus fortes doses testées<sup>[145]</sup>.

- ***Génotoxicité.***

Les études visant à rechercher des effets génotoxiques de ces trichothécènes présentent des résultats contradictoires et ne permettent pas de conclure quant à leur génotoxicité.

Les études sur la reproduction ont mis en évidence une toxicité maternelle et une foetotoxicité.

- ***Immunotoxicité.***

Concernant les effets immunotoxiques, l'exposition aux trichothécènes du groupe A induit à une diminution du nombre de splénocytes, de thymocytes, de lymphocytes circulants et une déplétion des lymphocytes B dans le foie fœtal de souris. La stimulation *in vivo* des lymphocytes B et T de la souris est inhibée de façon réversible.

La résistance à l'infection serait altérée après intoxication. Les effets immunotoxiques de la toxine T-2 sont attribués à la déplétion du nombre de lymphocytes T due au dysfonctionnement des macrophages liés aux lymphocytes T.

Chez l'homme, la production *in vitro* d'immunoglobulines IgA, IgG et IgM est inhibée par la toxine T-2 et la fonctionnalité des macrophages est également perturbée. La prolifération des lymphocytes est inhibée par la toxine T-2 ainsi que la maturation des cellules dendritiques présentatrices de l'antigène.

- ***Hématotoxicité.***

Les effets hématotoxiques se manifestent par des leucopénies qui apparaissent après exposition à ces trichothécènes chez de nombreuses espèces (chat, souris, cobaye, rat, lapin,

mouton et porc). De nombreuses études *in vivo* font état d'anémie, d'atteinte de la concentration en hémoglobine et de l'hématocrite chez ces mêmes espèces.

L'apparition des hémorragies est l'un des symptômes caractéristiques des intoxications par les trichothécènes chez le rat, la souris, le porc, les bovins, les ovins et l'homme. Ces hémorragies sont dues à une diminution du nombre de plaquettes dans le sang circulant et à des dysfonctionnements de celles-ci. La myélotoxicité concerne les troubles induits sur la formation des cellules sanguines lors de l'hématopoïèse qui se déroule dans la moelle osseuse. Les atteintes de la moelle osseuse par ces trichothécènes ont été rapportées chez plusieurs espèces (mouton, souris, poulet et cobaye). Elles sont caractérisées par des hypoplasies résultant de la nécrose des cellules médullaires. Dans tous les cas, la toxine T-2 est la plus myélotoxique des trichothécènes.

#### ➤ ***Trichothécènes du groupe B***

On ne dispose pas de données concernant le devenir des trichothécènes du groupe B chez l'homme. Chez l'animal, la biodisponibilité des trichothécènes est extrêmement variable selon les espèces animales, allant de moins de 10 % chez les ovins et la volaille à plus de 50% chez le porc.

Le métabolisme est intense, conduisant à une excrétion des trichothécènes libres ou conjugués par les urines, la bile et les fèces.

Les effets toxiques observés dans les études de toxicité aiguë sont des vomissements, des refus de s'alimenter, des pertes de poids et des diarrhées. Après intoxication aiguë, une nécrose tissulaire est observée au niveau du tractus intestinal, de la moelle osseuse et des tissus lymphoïdes.

Une étude de toxicité chronique chez la souris met en évidence une diminution significative du gain de poids, une augmentation des IgA et des IgG (< 10 %) sériques pour les doses les plus élevées, une augmentation du poids du foie et des testicules ainsi qu'une diminution du poids de la rate. Aucune manifestation néoplasique ou pré-néoplasique n'a été observée lors de cette étude<sup>[145]</sup>.

- **Génotoxicité.**

Les études réalisées sur les effets génotoxiques des trichothécènes du groupe B présentent des résultats contradictoires qui ne permettent pas de conclure sur le potentiel génotoxique de ces molécules.

- **Immunotoxicité**

Concernant les effets immunotoxiques, l'exposition aux trichothécènes du groupe B induit une réduction du nombre des cellules des différentes lignées cellulaires immunitaires ainsi qu'une baisse de la résistance à l'infection.

Une diminution du nombre de cellules sanguines circulantes due à une myélotoxicité est également décrite avec les trichothécènes du groupe B. Cependant, ces troubles hématologiques semblent avoir une amplitude plus faible que ceux induits par les trichothécènes du groupe A. L'hypoplasie médullaire induite par les trichothécènes du groupe B est transitoire et le temps de régénération est variable.

### **e. Valeurs toxicologiques de référence.**

Des doses journalières tolérables égales à :

- $1.10^{-6}$  g/kg-pc /j pour la DON
- $0,06.10^{-6}$  g/kg-pc /j pour la T-2 et la HT-2 ont été fixé par la JECFA et le Comité scientifique de l'alimentation humaine.

(kg-pc : kilogramme de poids corporel)

## **4. Zéaralénones.**

### **a. Définition.**

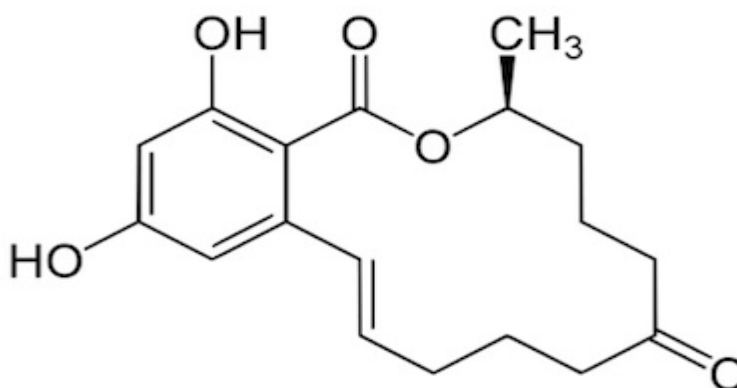
La zéaralénone anciennement connue sous le nom de la toxine F-2, est une mycotoxine produite par une variété d'espèces du genre *Fusarium* : *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. tricinctum*, *F. crookwellense*, *F. equiseti*, *F. sambucinum*, *F. gibbosum*, *F. lateritium*, *F. avenaceum*.<sup>[146]</sup> La biosynthèse de la zéaralénone s'effectue selon la voie des

polyacétoacides, à partir de l'acide acétique (cyclisation de 9 molécules d'acide acétique).<sup>[147-148]</sup>

Les moisissures productrices de la ZEA contaminent en particulier le maïs, mais aussi l'orge, l'avoine, le blé et le riz. La contamination des graines par les moisissures toxigènes a lieu généralement dans les champs. La ZEA a été fréquemment impliquée dans des désordres reproductifs chez les animaux de ferme, et occasionnellement dans des syndromes hyperœstrogéniques chez l'Homme.<sup>[149]</sup>

### **B. Propriétés physico-chimiques.**

La zéaralène a été identifiée comme une lactone de l'acide résorcylique (RAL). Sa formule est donnée dans la Figure 7.



**Figure 7 : Structure moléculaire de la zéaralène.**

Le noyau de la molécule, constitué par la lactone de l'acide résorcylique (zéaralane), caractérise toute une famille de produits naturels ou dérivés par synthèse chimique.

La molécule est très faiblement soluble dans l'eau et l'hexane ; sa solubilité augmente avec la polarité des solvants : benzène, chloroforme, acétate d'éthyle, acétonitrile, acétone, méthanol, éthanol. Le maximum d'absorption dans l'UV à 274 nm, le plus caractéristique, est le plus souvent utilisé pour la détection UV. La molécule émet une fluorescence bleue avec un maximum d'émission à 450 nm lorsqu'elle est excitée entre 230 et 340 nm dans l'éthanol.

### **C. Facteurs influençant la teneur en zéaralénone dans les denrées alimentaires.**

La zéaralénone est produite en même temps que d'autres toxines (trichothécènes, fumonisines...) lors de l'exposition aux intempéries. Le stockage à 4°C augmente la production dans le maïs et céréale.

Dans les fractions de meunerie, la zéaralénone présente des teneurs supérieures dans les sons et les issues par rapport à la farine. Dans les coproduits issus de l'amidonnerie, le gluten est plus contaminé que le grain (de 200 à 1 200 %). Les germes sont également très contaminés (de 80 à 22 % de la teneur des grains).

### **D. Effets toxiques de la zéaralénone.**

Cependant la ZEA est connue par sa faible toxicité aigüe. De plus la ZEA a été connue par ses effets hépatotoxiques, hématotoxiques, immunotoxiques et génotoxiques.

A de hautes concentrations, la ZEA produit plusieurs altérations du système immunitaire. Elle produit également des altérations du tractus de reproduction chez des modèles expérimentaux (souris, rat, lapin...).<sup>[78]</sup> La ZEA a montré une action œstrogène (Gonflement et rougissement de la vulve, prolapsus vaginal, accroissement de la taille de l'utérus, chaleurs anormales...) chez divers animaux domestiques.<sup>[1]</sup> Chez les ruminants la réponse oestrogénique a entraîné des troubles de la reproduction et de diverses modifications physiques des organes génitaux<sup>[34]</sup>. La diminution du taux de survie de l'embryon chez les femelles en gestation, une réduction des quantités de LH et de progestérone produites engendrant une diminution de production laitière et des troubles de la morphologie des tissus utérins, une féminisation des jeunes mâles par la diminution de la production de testostérone, l'infertilité et la mortalité.<sup>[150]</sup>

### **e. Valeurs toxiques de référence.**

Le Comité mixte d'experts FAO/OMS a établie une prise journalière acceptable de la ZEA de l'ordre de 0.5 µg/kg p.c

kg-pc : kilogramme de poids corporel

## 5. Patuline.

### a. Définition.

La patuline est produite par de nombreux champignons appartenant principalement aux genres *Penicillium* et *Aspergillus*, dont *A. clavatus*, moisissure de la mycoflore des graines, *Penicillium expansum*. Elle peut être produite également par *Byssochlamys nivea* et *B. fulva*, champignons présents dans divers jus de fruits. <sup>[151]</sup>

Cette toxine est principalement trouvée sur les *Pomaceae* (pomme et poire), après une contamination par *P. expansum*, qui est certainement l'espèce la plus importante du point de vue économique et sanitaire. Le développement de ce champignon, et donc la production de patuline est favorisée lorsque la surface du fruit est endommagée par un insecte ou par des manipulations.<sup>[152]</sup> En effet, ce champignon saprophyte de la pomme surtout, est le responsable majeur de la contamination par la patuline des jus de fruits, compotes et autres produits de la transformation des pommes.

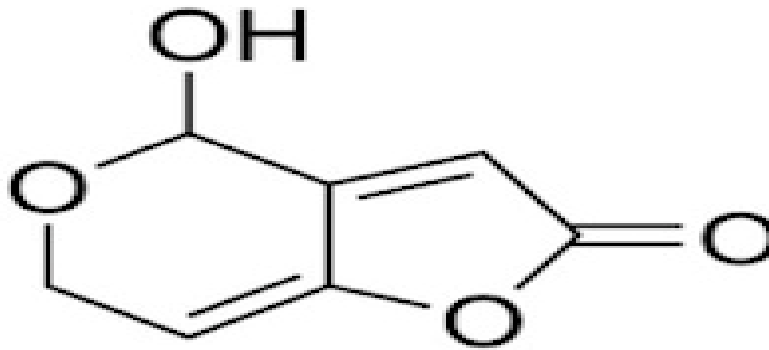
La patuline constitue un exemple particulier de mycotoxine utilisée un temps en thérapeutique vétérinaire et humaine en raison de ses propriétés antibiotiques. Cependant, pendant les années 50 et les années 60, il est devenu évident que, en plus de son activité antibactérienne, antiviale, et antiprotozoaire, la patuline était toxique aux plantes et aux animaux, excluant son utilisation clinique comme antibiotique. Pendant les années 60, la patuline a été classifiée comme mycotoxine.

Outre les *Pomaceae*, *P. expansum* est un saprophyte d'autres cultures. La patuline a été détectée dans des bananes, pêches, abricots, raisins, jus de raisinet vin, mais en général le taux de patuline demeure bien plus faible que dans les produits issus de la filière « pomme ».

### b. Propriétés physico-chimiques.

Il s'agit d'une lactone hétérocyclique insaturée de poids moléculaire 154 g/mol et de formule brute C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>. Caractérisée par un point de fusion de 111°C et un maximum d'absorption à 275 nm, elle est soluble dans l'eau et dans la plupart des solvants organiques,

à l'exception du benzène et de l'éther de pétrole. Elle est stable en milieu acide, mais perd son activité en milieu alcalin.



**Figure 8: Structure moléculaire de la patuline.**

En condition de laboratoire, la production de patuline est optimale pour des températures comprises entre 20°C et 25°C sur des milieux contenant des sucres et notamment du glucose. La production maximale apparaît une à deux semaines après la mise en culture de la moisissure.

### **c. Effets toxiques de la patuline**

La patuline provoque des lésions au niveau des poumons, des reins et de la rate et, accessoirement, elle engendre des dégénérescences des neurones du cortex cérébral, d'où l'apparition de divers symptômes nerveux.<sup>[153]</sup>

La patuline a des pouvoirs carcinogène et mutagène entraînant des syndromes nerveux. Chez les ruminants, elle induit une paralysie des réservoirs gastriques qui est à l'origine des troubles de l'ingestion et de la digestion. Ces troubles ont des effets néfastes sur la production laitière et la croissance.

A l'échelle moléculaire, il semblerait que la patuline agisse en altérant la perméabilité ionique et/ou la communication intracellulaire. Ceci engendrerait un stress oxydatif et la mort cellulaire.<sup>[34,154]</sup>

#### **d. Valeurs toxicologiques de référence.**

La JECFA et le comité scientifique de l'alimentation humaine ont fixé provisoirement une dose journalière tolérable égale à  $0,4 \mu\text{g} / \text{Kg-pc/j}$ <sup>[155]</sup>

### **6. Fumonisines.**

#### **a. Définition.**

Les fumonisines sont un ensemble de toxines produites par les espèces du genre *Fusarium* comme *F. verticillioides* (ou *F. moniliforme*) et *F. proliferatum*<sup>[1]</sup>. Les fumonisines contaminent fréquemment le maïs et les produits à base de maïs, mais elles contaminent aussi l'asperge, le riz, l'orge, le blé, la bière, le thé noir et les plantes médicinales.<sup>[156-157]</sup>

La fumonisine B1 (FB1) est la principale toxine dans ce groupe. La FB1 a été détectée dans le maïs et ses produits de base de maïs à des concentrations élevées de l'ordre des mg/kg (ppm).

La FB1 agit sur la voie de biosynthèse des sphingolipides en inhibant de façon compétitive l'activité de la céramide synthase. Cette perturbation de la synthèse des sphingolipides entraîne une accumulation de bases sphingoïdes [la sphinganine (Sa) et dans une moindre mesure la sphingosine (So)] et une déplétion en céramide et en sphingolipides complexes.

Elle se traduit par l'augmentation du rapport Sa/So, observée dans les tissus et le sérum d'animaux ayant consommé des fumonisines. Chez l'animal, ce rapport constitue un marqueur précoce, dépendant de la dose et spécifique d'une exposition aux fumonisines.

Il n'existe pas de biomarqueur d'exposition validé chez l'homme.

#### **b. Propriétés physico-chimiques.**

Les fumonisines ont une structure chimique qui se base sur une longue chaîne hydrocarbonée hydroxylée, comportant des groupes méthylés et amines, deux groupes hydroxyles sont estérifiés avec des acides tricarbalyles (propane-1, 2, 3-tricarboxylique).

Les fumonisines B2 ne comportent pas de groupe hydroxyle en position 10, par rapport aux fumonisines B1.

La structure chimique et le caractère hydrosoluble des fumonisines les différencient nettement des autres mycotoxines. Ce qui explique que les fumonisines ne pouvaient pas être prises en compte par les procédés d'extraction et les détecteurs habituels.

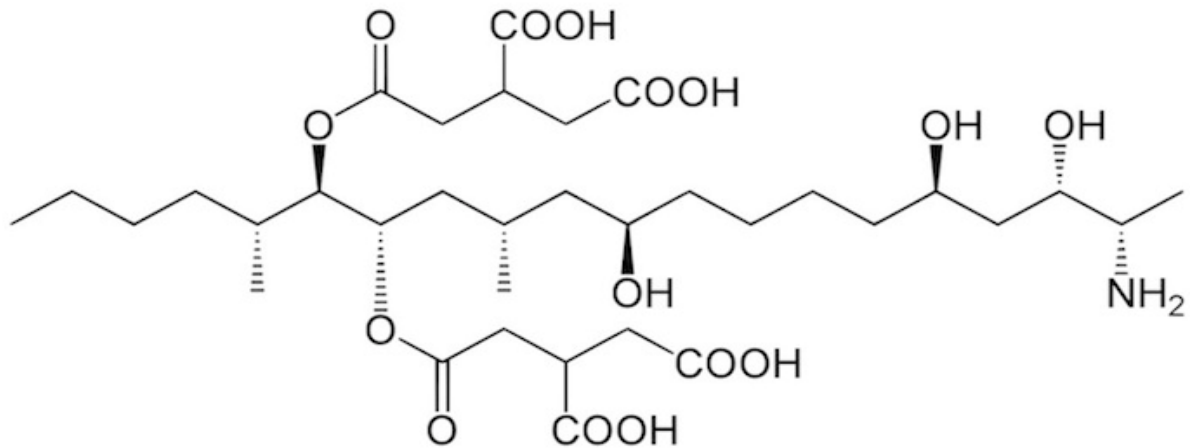


Figure 9: Structure chimique de la fumonisine B1.

La FB1 a un poids moléculaire de 722 g/mol et la FB2 de 706 g/mol. Ce sont des composés polaires, solubles dans l'eau et insolubles dans les solvants apolaires.

### c. Effets toxiques des fumonisines.

La FB1 peut causer des mycotoxicoses aiguës chez les animaux de la ferme comme la leucoencephalomalacie chez les équidés et des œdèmes pulmonaires chez le porc, la FB1 est également hépatotoxique et néphrotoxique pour le porc, le rat, la souris et le lapin.

L'IARC a déclaré les toxines produites par *Fumonisine moniliforme* comme des cancérigènes potentiels chez l'homme et les a classées dans le groupe 2B. <sup>[158]</sup> La FB1 est phytotoxique, elle endommage les membranes cellulaires et réduit la synthèse de la chlorophylle. Elle perturbe la biosynthèse des sphingolipides chez les plantes, elle inhibe la croissance cellulaire et altère le métabolisme lipidique chez les *saccharomyces cerevisiae* (levure). Chez l'homme, il n'y a aucune confirmation de la toxicité aiguë des fumonisines, cependant une corrélation entre l'exposition aux fumonisines en Afrique du Sud et le cancer de l'œsophage a été suggéré. <sup>[159]</sup>

#### **d. Valeurs toxicologiques de référence.**

Une dose journalière tolérable égale à 2 ug/kg de poids corporel /j a été fixée par la JECFA et le Comité scientifique de l'alimentation humaine.

#### **7. Autres mycotoxines.**

Plusieurs mycotoxines sont éventuellement rapportées dans la littérature, ainsi aujourd'hui la liste des mycotoxines est impressionnante (environ 400) et ne cesse d'augmenter<sup>[160]</sup>, appartenant à différentes familles chimiques avec des caractéristiques physico-chimiques et toxicologiques très diverses.

Les alcaloïdes de l'ergot du seigle produits par *Claviceps purpurea* responsables de l'ergotisme étaient l'un des produits les plus importants intervenant dans les intoxications alimentaires au moyen âge.

*Penicillium roqueforti* et *Penicillium camemberti* (= *Penicillium caseicola*), espèces utilisées pour la fabrication des fromages, produisent un certain nombre de métabolites toxiques, y compris l'acide pénicillinique, la roquefortine, la toxines PR, et l'acide cyclopiazonique<sup>[161]</sup>

Plusieurs mycotoxines induisent des tremblements comme réponse neurologique chez les animaux de ferme ; la plupart de ces champignons convulsivogènes contiennent une partie d'indole modifiée et sont produites par certaines espèces d'*Aspergillus*, de *Penicillium*, et de *Claviceps*.

A l'origine isolée à partir de *Penicillium cyclopium* (maintenant) *P.aurantiigriseum*, l'acide cyclopiazonique est un acide tétramique d'indole. Cette mycotoxine est un inhibiteur spécifique d'ATPase calcium-dépendante et induit des changements de transport d'ion à travers les membranes des cellules<sup>[162]</sup>. Elle est produite par d'autres espèces de *Penicillium* aussi bien que par plusieurs espèces d'*Aspergillus*, y compris l'*Aspergillus flavus*.

L'acide cyclopiazonique a été isolé à partir d'un échantillon d'arachide qui avait été impliqué dans l'originale maladie X de la dinde (Turkey X disease) et a pu avoir contribué tôt à la sévérité de cette aflatoxicose.

Les toxines jaunes de riz (citrinine, citreoviridine, luteoskyrine, rugulosine, rubroskyrine, et composés reliés) sont censées pour avoir aggravé Shoshin-Kakke, une forme particulièrement maligne de bérubéri vue au Japon en début du 20<sup>ème</sup> siècle.<sup>[163-164]</sup>

## **8. Principaux genres fongiques responsables de la synthèse des mycotoxines.**

Les champignons, ou les mycètes, sont des organismes eucaryotes uni ou pluricellulaires, incluant des espèces macroscopiques et d'autres microscopiques d'aspect filamenteux ou levuriforme. Ces derniers peuvent devenir visibles lorsque leur développement est important, ils sont appelés couramment « Moisissures », véritables agglomérats de filaments mycéliens et d'organes fructifères capables de coloniser des substrats très divers qui sont des organismes hétérotrophes et ubiquistes. Ils peuvent se multiplier et produire des mycotoxines avant ou après la récolte, pendant le stockage, le transport, ou la transformation des matières premières et des aliments.<sup>[140]</sup>

### ***A. Aspergillus***

*Aspergillus* fait partie des *Deuteromycetes* (champignons imparfaits, reproduction asexuée), ordre des *Hyphomycètes*, famille des *Moniliaceae*. Ce genre comprend environ 185 espèces réparties en 18 groupes morphologiquement, génétiquement et physiologiquement proches.<sup>[165]</sup>

#### **➤ Morphologie**

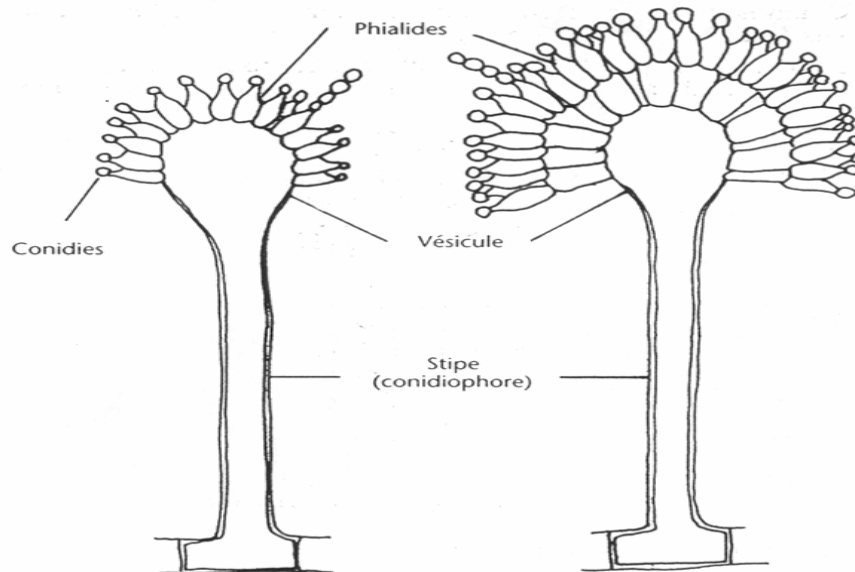
Le genre *Aspergillus* présente différentes espèces : plusieurs sont de couleur noire et correspondent à la section *Nigri* qui contient des espèces reconnues comme productrices d'OTA. Les *Aspergillus* peuvent être aussi de couleur : jaune, brune ou verte.

Les *Aspergillus* sont caractérisés par la présence de **conidiophores** dressés avec des grands stipes. La paroi (qui est épaisse) et le bout de stipe gonflé appelé **vésicule**.

Les vésicules sont souvent sphériques et rugueuses, parfois sont étirées ou gonflées dans quelques cas elles sont moins apparentes. Ces vésicules supportant soit une seule rangée de

**phialides** (structures unisériées), soit une rangée de phialides et une rangée de cellules sous-jacentes appelées **métules** (structure bisériée). L'ensemble vésicule + phialide + conidies ± métules constitue la tête Aspergillaire.

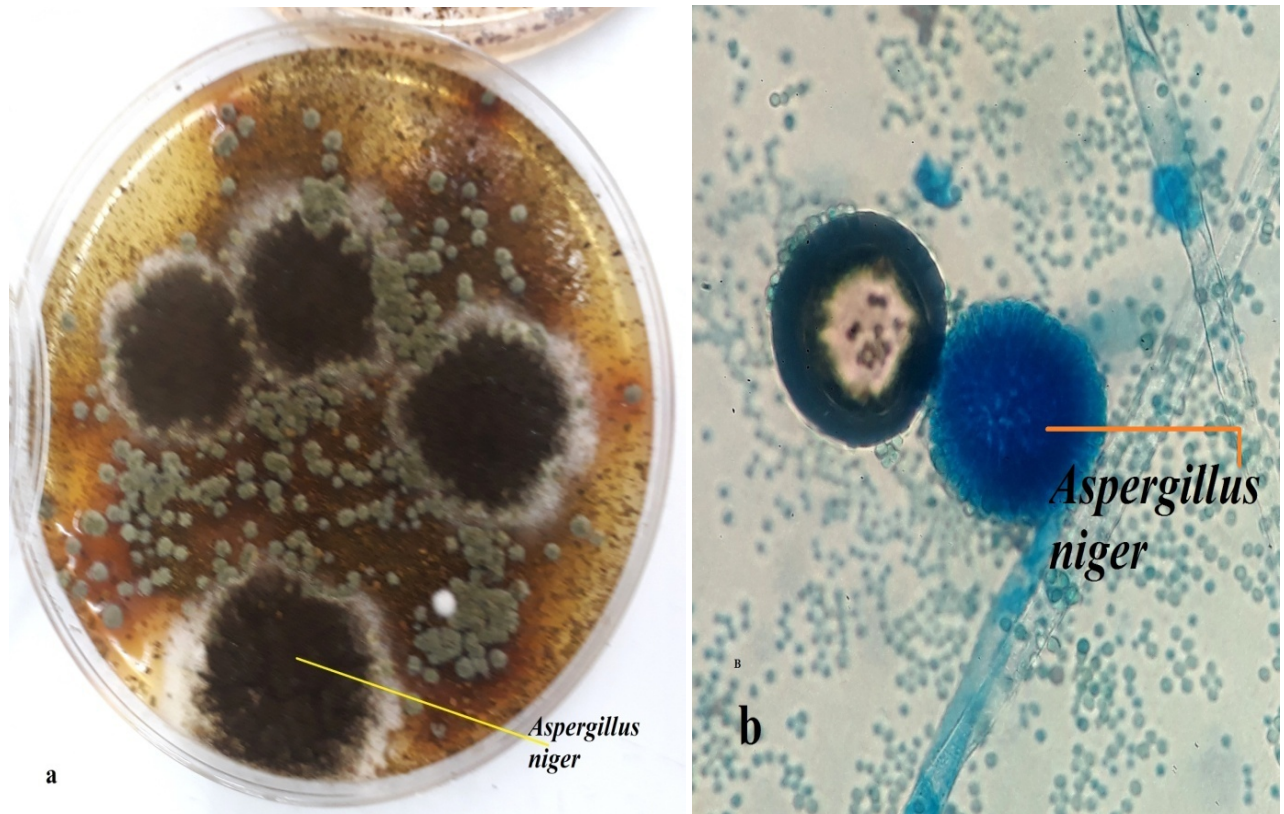
Deux autres traits de caractère qui nous ont été utiles pour l'identification de la plupart des espèces d'*Aspergillus*, d'une part les stipes formés d'une cellule courte appelée «**footcell**» avec un hyphe fertile, d'autre part, les stipes souvent non cloisonnés.



**Figure 10:Caractères morphologiques des *Aspergillus*.**

#### ➤ **Culture.**

Les *Aspergillus* croient rapidement sur milieu **Sabouraud**. Après 72h d'incubation, on observe des colonies plates (poudreuses ou granuleuses) : après 96h, les colonies vont prendre leur teinte caractéristiques, gris-vert pour *A.fumigatus*, vert-jaune pour *A.Flavus* et jaune puis noir pour *A.niger* Figure 11 .Le revers de la colonie est incolore ou jaune, mais il peut brunir ou rougir avec l'âge.

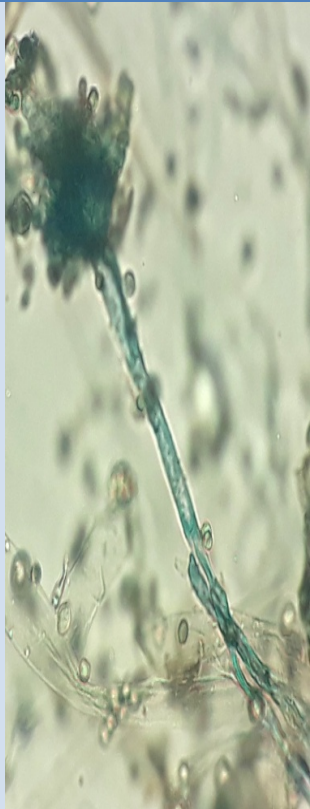
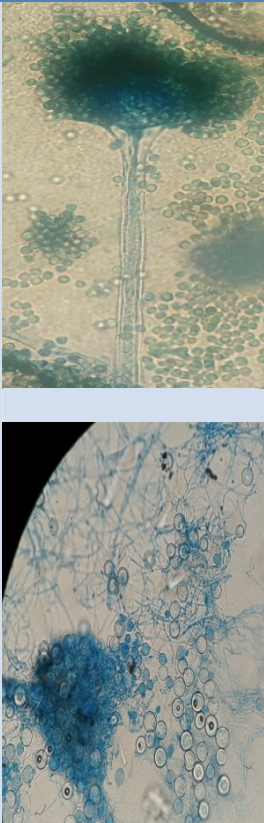

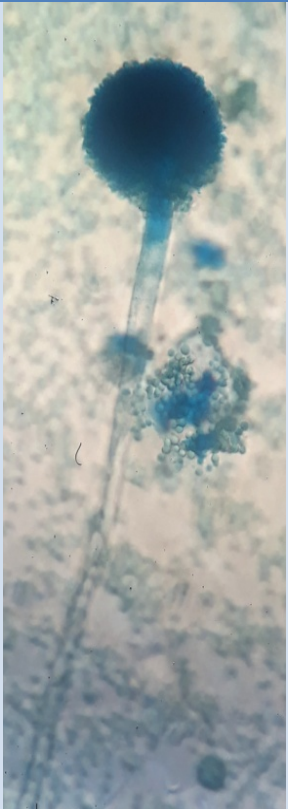


**Figure 11 : *Aspergillus niger* (a : Culture du thé contaminé sur milieu *Sabouraud* après 96h d'incubation ; b : Au microscope Gr X40)**

❖ L'examen direct a été réalisé avec du bleu coton.

➤ Description de quelques espèces d'*Aspergillus* importantes dans notre étude :

**Tableau VI: Différentes espèces d'*Aspergillus* retrouvées dans notre étude.**

	<i>Asp.flavus</i>	<i>Asp nidulans</i>	<i>Asp.fumigatus</i>	<i>Asp. niger</i>
<b>Tête aspergillaire</b>	-300-400 um -Uni ou bisériée, radiée -Vésicule sphérique (25-45um) -Grosse conidies (3,5-4,5 um), vert pâle, échinulées, globuleuses ou subglobuleuses.	-75-36 Um -Bisériée, en colonne -Vésicule sphérique -Conidies (3-3,5 um), vertes, échinulées.	-100 Um, unisériée, en colonne. -Vésicule hémisphérique -Conidies, courtes (2,5 à 3 um) Globuleuses, vertes, échinulées	-Radiée, bisériée -Vésicule globuleuse (30 -100um) -Grosses Conidies (3,5 -5um), globuleuses, brunes, échinulées.
<b>Conidiophore</b>	Long (jusqu'à 2,5um) souvent verruqueux, incolore, paroi épaisse.	Petit : 75-100 um, sinueux, brun, lisse	300um, lisse, incolore Evasement progressif au sommet	Long (1,5-3mm), lisse, incolore ou brunâtre.
<b>Temps de pousse</b>	2 à 3 jours	3-5jours	1-2jours	2-3jours
<b>Colonies</b>	Recto : duveteuses à poudreuses, blanches puis jaunes à vert-jaune. Verso incolore, rosé à brun à rouge foncé	Recto : colonies duveteuses à poudreuses, vertes foncées à jaunâtres Verso : rougeâtre, pourpre	Recto : colonies évoluant du blanc au vert-gris au gris noirâtre. Verso : incolore, jaune, vert ou brun rougeâtre.	Recto : colonies duveteuses à poudreuses, blanches puis jaunes puis vert-jaunes. Verso : incolore, rosé à brun rouge foncé.
<b>Aspect au microscope de certains échantillons traités durant notre étude GRx40</b>				

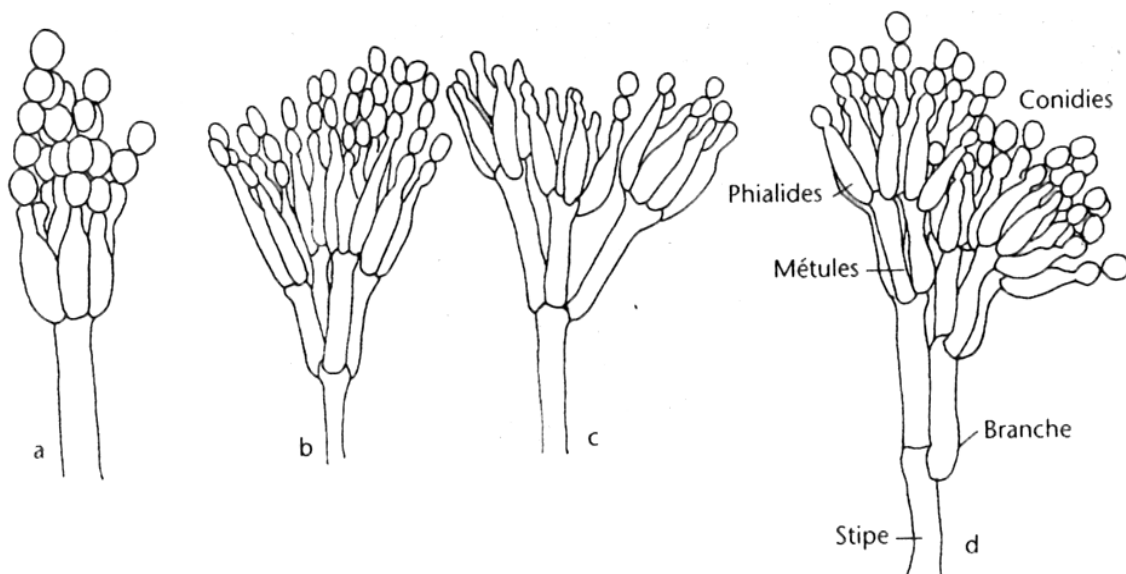
## B. *Penicillium*

Ce type de moisissure appartient aux ascomycètes. Ce genre comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores. Ils sont saprophytes et peuvent devenir parasites en présence d'humidité lors du stockage. Il s'agit de contaminants fréquents des régions tempérées.

### ➤ Morphologie

Le *Penicillium* est caractérisé par un filament dressé, le stipe, qui porte des cellules conidiogènes (phialides) groupées en pinceaux (d'où le nom de *Penicillium*) formant des conidies en chaînes, l'extrémité du mycélium présente la forme d'un pinceau de couleur verdâtre. Entre les phialides et les stipes peuvent s'intercaler des éléments intermédiaires qui rendent l'organisation du pinceau plus complexe.

Les espèces de ce genre se développent normalement dans des milieux où l'activité de l'eau est plus élevée que celle permettant la croissance des *Aspergillus*, à des températures plus basses. Il s'agit de contaminants fréquents des régions tempérées. <sup>[140]</sup>



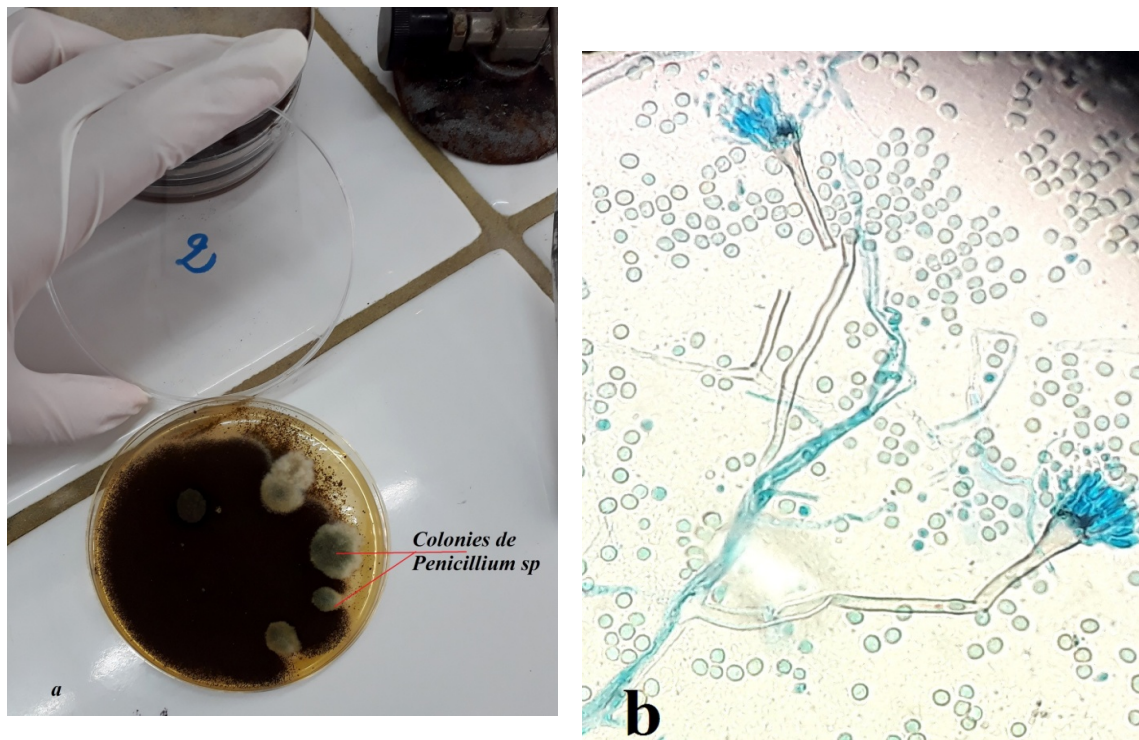
**Figure 12: Caractères morphologiques des *Penicillium* spp: (a) Pinceau monoverticillé (b) biverticillé (c) biverticillé fourchu (furcatum) (d) terverticillé (D'après Raper et Thom, 1968 et Pitt 1979)**

Le pénicille peut être constitué soit :

- D'un seul verticille : monoverticillés,
- D'un verticille de ramification (métules) portant les phyalides : biverticillés
- De plusieurs verticilles successifs comportant des ramifications, des métules et des phialides : riverticillés, quadriverticillés, etc.

### ➤ Culture

Le genre *Penicillium spp* se développe rapidement sur *Sabouraud*. Il croit à une température de 20 à 27°C. Après 5-7 jours d'incubation, les spores donnent aux colonies une teinte (vert, vert-bleu, vert-gris, vert-jaune, gris-bleu et pour d'autres espèces jaune, orange, rose ou rouge). Le revers peut-être incolore, jaune rouge, brun ou noir selon les espèces. <sup>[140]</sup>



**Figure 13: *Penicillium spp* (a : culture du thé contaminé sur milieu sabouraud après 7 jours d'incubation; b : Microscope Gr : X40)**

- ❖ L'examen direct a été réalisé avec du bleu coton.

## C. Mucorale.

Les mucorales sont des champignons filamenteux qui font partie des zygomycètes. Ils se reproduisent de façon sexuée en formant des zygospores et de façon asexuée en formant des sporocystes (sporangies) à l'intérieur desquels seront produites les spores (endospores).

### ➤ Morphologie

Le thalle est coenocytique caractérisé par une croissance rapide, très luxuriant, il est constitué de filaments peu ou pas cloisonnés, de diamètre large et irrégulier. Les mucorales, pour la plupart, produisent des stolons : filaments favorisant la propagation de la culture. Les organes de reproduction asexuée se développent à partir du thalle (Figure14).

Un filament aérien se forme, appelé sporocystophore (ou sporangiophore) qui portera la partie fertile, le sporocyste ou sporange. <sup>[166]</sup>

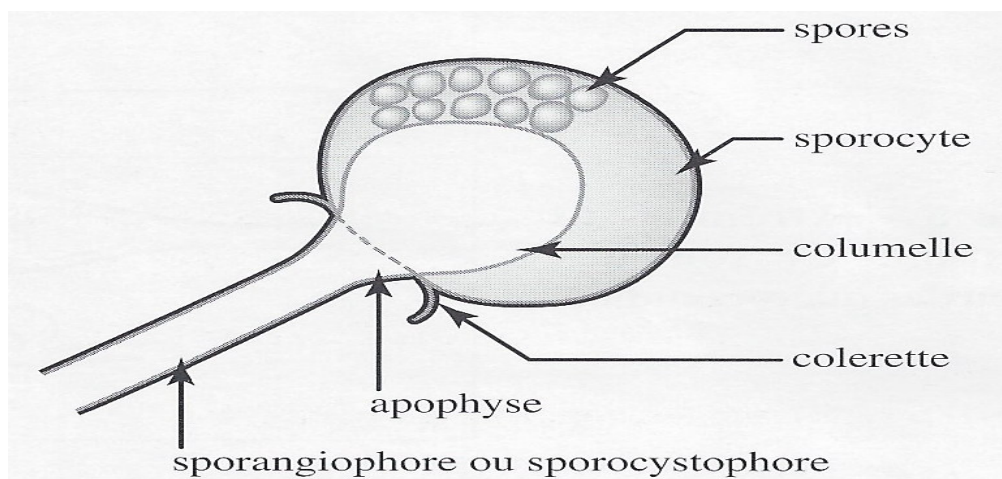


Figure 14: Schéma d'un *mucorale* (Joffin 2017)

### ➤ Culture.

Les mucorales se caractérisent par une croissance rapide lors de leur ensemencement sur *sabouraud*. Les colonies peuvent être cotonneuses, de couleur blanche au départ, puis grise foncée en vieillissant (*Rhizopus sp*) ou laineuse de couleur brune avec un verso incolore

(*Mucor sp*, *Rhizomucor sp*). L'optimum thermique est de 37°C. <sup>[166]</sup>

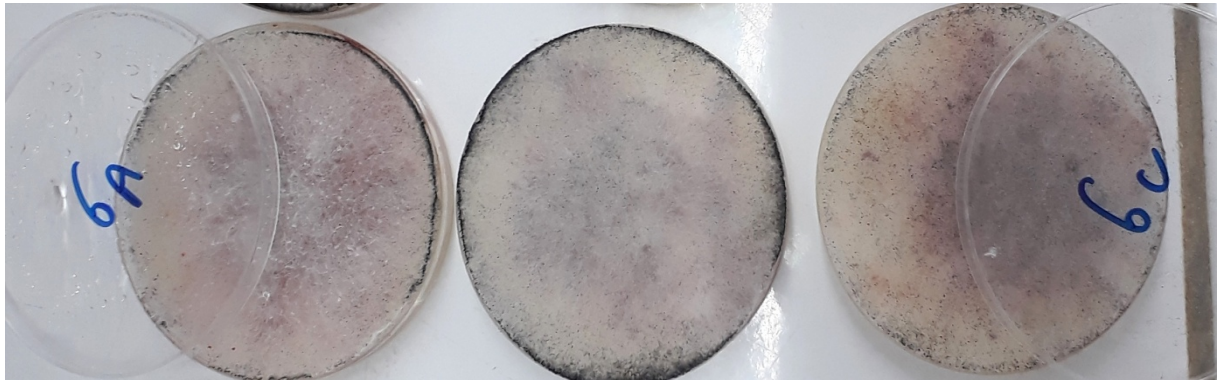


Figure 15: *Mucorale* : Culture du piment rouge contaminé sur milieu *sabouraud* après incubation de 72heures.

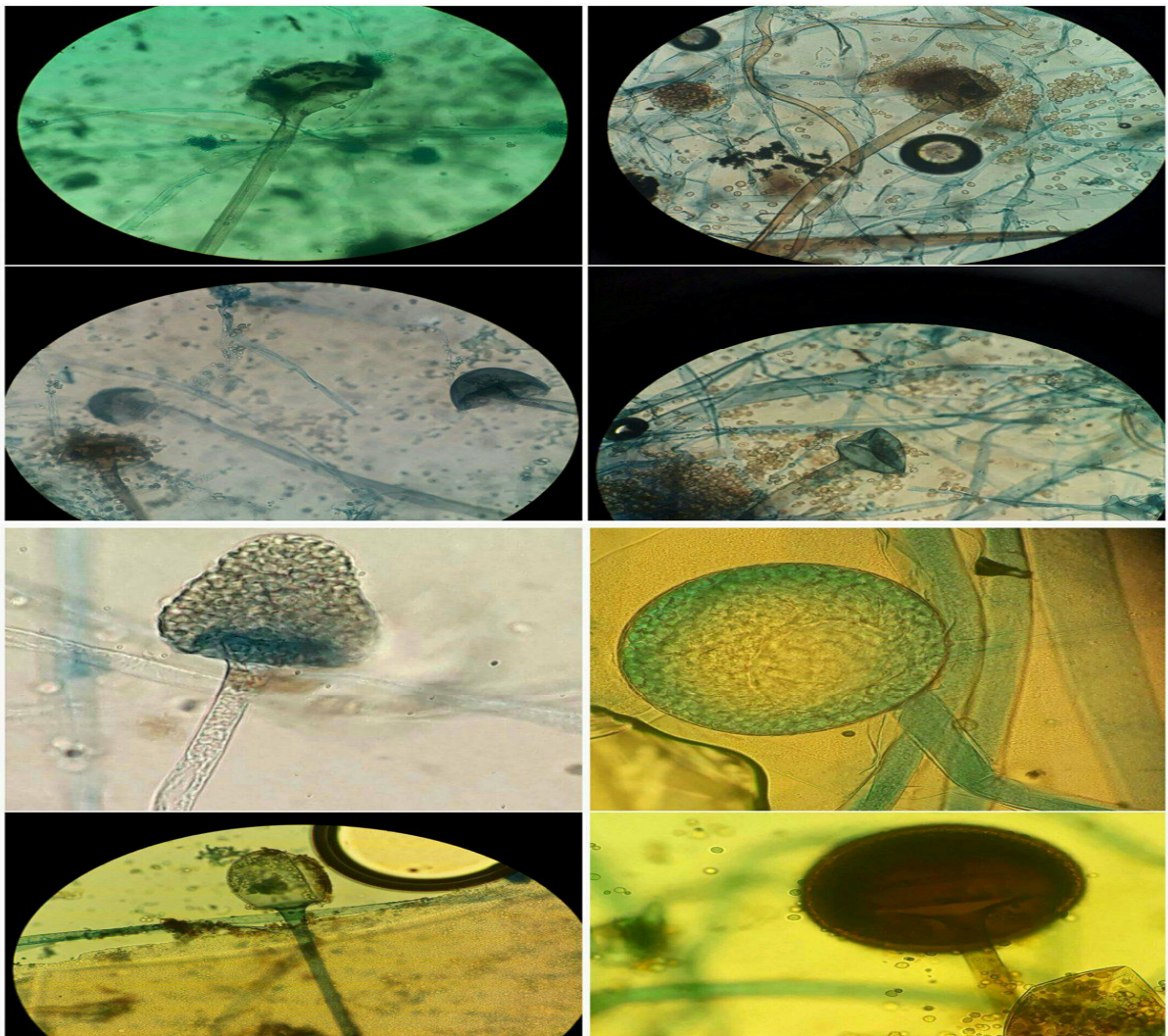
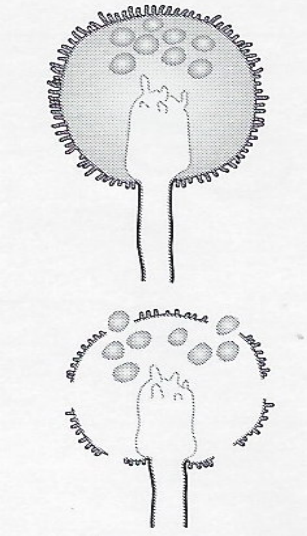
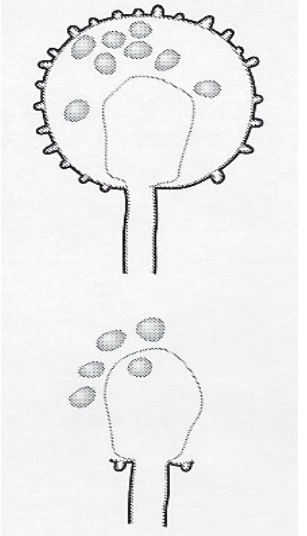
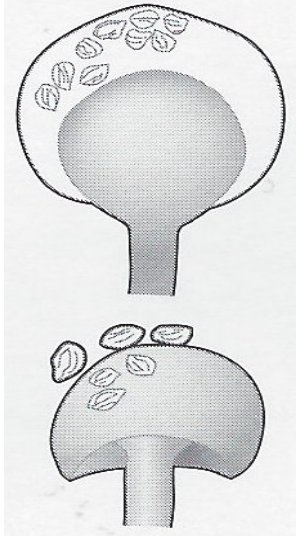


Figure 16: Différents *mucorales* retrouvés dans les échantillons traités durant notre étude.

**Tableau VII: *Mucorales* très fréquemment retrouvés dans les denrées alimentaires.**

	<i>Mucor</i>	<i>Rhizomucor</i>	<i>Rhizopus</i>
Rhizoïdes	Absents	Rares	Présents, ramifiés, bruns
Sporocytophore (filaments portant le sporocyste)	Simple ou branchés	Simple ou branchés	Simple ou en bouquets partant du stolon à partir des nœuds
Fructifications	Sporocystes, globuleux, à columelle ovoïde, lisse ou spiculée, sans apophyse. Spores ovoïdes brun clair	Sporocystes courts, noirs à columelle ovoïde, lisse, sans apophyse Spores globuleuses et lisses	Sporocystes globuleux et noirs, à columelle ovoïde, lisse, sans apophyse. Spores allongées et striées.
Aspect microscopique			

#### **D. *Fusarium*.**

Le genre *Fusarium* a été décrit pour la première fois par Link en 1809. Il regroupe plusieurs espèces pathogènes pour les plantes, l'homme et les animaux. <sup>[167]</sup> *F. graminearum* est l'espèce la plus représentée sur le blé et également le maïs, dont la zone de présence géographique est la plus étendue. <sup>[168]</sup>

Les *Fusarium* sont cosmopolites et ubiquitaires (céréales, plantes, graines, sol, etc). Ce sont des moisissures imparfaites appartenant à la classe des Deutéromycètes.

Les formes parfaites sexuées connues appartiennent à la classe des Ascomycètes. Ce genre comprend 50 à 70 espèces. <sup>[165]</sup>

➤ Morphologie.

Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence des macroconidies fusiformes et cloisonnées <sup>[140]</sup>. Le thalle à croissance rapide, blanc crème, jaune, brunâtre, rose, rouge, violet. Les conidiophores parfois très ramifiés formant sur le thalle des masses d'aspect grisseux. Phialides plus au moins allongées pouvant produire des types de conidies : des macroconidies fusiformes et des microconidies. Certaines espèces produisent les deux types de spores, tandis que d'autres ne forment que des macroconidies. <sup>[161]</sup>

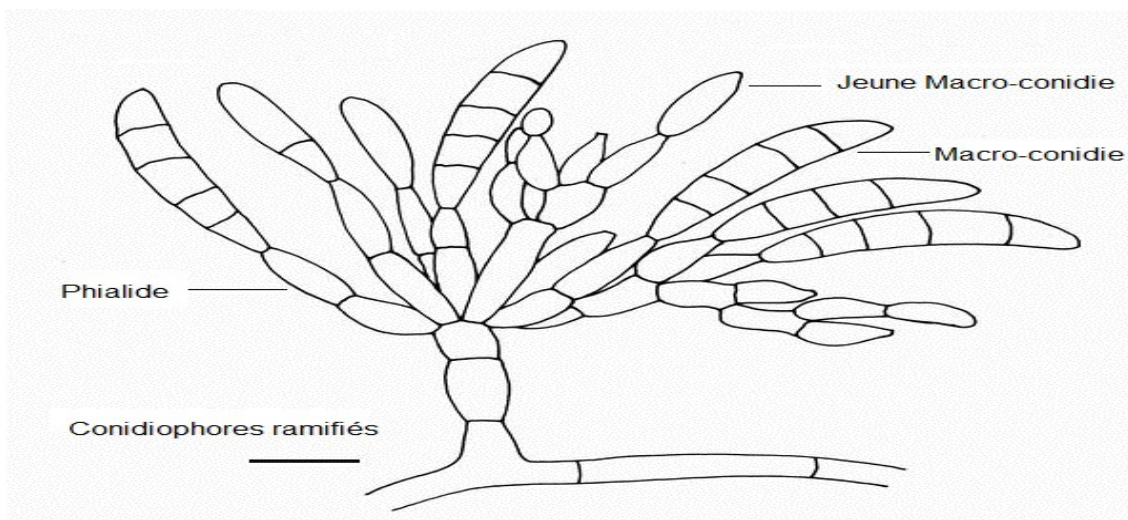


Figure 17: Schéma de la structure de *Fusarium* (Toffa, 2015).

➤ Cultures.

Les *Fusarium* se développent mieux sur gélose au malt et sur milieu PDA. Ils forment des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleur variable (blanche, crème, jaune, rose, rouge, violette). Le revers peut-être crème, rouge, à pourpre, violet. <sup>[140]</sup>

## CADRE REGLEMENTAIRE:

### 1. Mycotoxines dans les denrées alimentaires marocaines.

#### 1.1. Céréales et dérivés au Maroc.

Les céréales occupent une importance sociale, économique et nutritionnelle pour la population. Le Maroc importe ses besoins en céréales de différents pays notamment la France, les USA, le Canada, le Brésil, la Russie et l'Australie. Actuellement on estime qu'environ 25% des céréales commercialisées à l'échelle internationale sont contaminées par des mycotoxines. <sup>[169]</sup>

Dès les années 70, les premières investigations faites à l'IAV Hassan II ont montré que certains produits agricoles marocains incluant les céréales, se sont révélés susceptibles d'héberger des spores d'*Aspergillus* toxinogènes. Plus tard, une série d'analyse supportée par la Direction de la Répression des Fraudes entre 1991-1992 ont montré qu'un échantillon de maïs a été trouvé contaminé par 18 µg/kg d'AFB1. <sup>[103]</sup>

Dans une étude que nous avons effectué sur la contamination de 60 échantillons de céréales commercialisés au Maroc par les mycotoxines ont montré que 40 et 55% des échantillons analysés de maïs, de blé et d'orge sont respectivement contaminés par l'OTA. <sup>[170]</sup>

Dans les **échantillons d'orge**, les niveaux de l'OTA varient entre 0,04 et 0,8 µg/kg, avec une concentration moyenne de l'ordre de 0,17 µg/kg.

Dans les **échantillons de blé**, la concentration de l'OTA varie entre 0,04 et 1,73 µg/kg avec une concentration moyenne de l'ordre de 0,09 µg/kg.

Dans les **échantillons de blé et d'orge**, la ZEA et la FB1 étaient au-dessous de la limite de détection de ces toxines.

En ce qui concerne le maïs, la concentration moyenne en OTA est d'environ 0,43 µg/kg, alors que la valeur la plus élevée était de l'ordre de 7,22 µg/kg. Cette valeur dépasse la limite maximale fixée par la réglementation européenne concernant l'OTA dans les céréales qui est établie à 5 µg/kg.

Concernant la co-occurrence naturelle des toxines de *Fusarium* avec l'OTA parmi les céréales analysées, 15 et 50% des échantillons de maïs contaminés avec l'OTA se trouvent aussi contaminés avec la ZEA et la FB1. Les concentrations en ZEA variaient entre 11,8 et 16,5 µg/kg, alors que les concentrations en FB1 se situent entre 0,01 et 5,96 mg/kg. Les valeurs moyennes des concentrations de la ZEA et la FB1 sont respectivement de 2,09 µg/kg et 0,96 mg/kg. Tous les échantillons de maïs contaminés par l'OTA étaient contaminés par une autre mycotoxine (ZEA ou FB1). Un seul échantillon a été trouvé contaminé simultanément par les trois mycotoxines avec des concentrations respectives de 13,5 µg/kg de ZEA, 0,05 µg/kg d'OTA et 1,51 mg/kg de FB1. La concentration la plus élevée en FB1 a été enregistrée au niveau d'un échantillon du maïs (5,96 mg/kg).

Cette valeur dépasse largement la valeur fixée par la réglementation européenne dans le maïs (2 mg/kg). Une concentration élevée de l'ordre de 5,5 mg/kg en FB1 a été retrouvée dans un autre échantillon, cependant le taux d'OTA dans cet échantillon demeure faible (0,11 µg/kg). Ces résultats suggèrent que la co-occurrence de l'OTA et de la FB1 dans les échantillons de maïs analysés est probablement due à deux processus de contaminations séparés par les moisissures toxigènes du champ (*Fusarium*) et de stockage (*Aspergillus*).

Dans une autre étude que nous avons réalisée sur la contamination de la farine de maïs commercialisée dans la région de Rabat par les aflatoxines, les résultats ont montré une forte incidence de 80% avec une valeur maximale de 11,2 µg/kg

En moyenne, le Maroc consomme un million de tonnes de maïs par année, il importe le maïs essentiellement des USA et de l'Argentine. Le maïs est considéré parmi les céréales à risque de contamination élevée par les moisissures toxigènes, à la différence des autres céréales susceptibles d'être plus résistantes à la contamination par les moisissures, comme l'orge et le blé. Ce qui impose un contrôle régulier des taux des mycotoxines dans cette céréale.

Le riz est parmi les céréales dont la consommation est devenue importante au Maroc ces dernières années. Sur un potentiel de 25 000 ha dans la région du Gharb, la superficie cultivée varie entre 500 et 13 000 ha en fonction de la pluviométrie.

En moyenne la population marocaine consomme 60 000 tonnes de riz par année (2 kg/personne/an) .Le riz est une céréale naturellement contaminée par les spores d'*A. ochraceus*.

Ces données nous ont poussé à rechercher l'OTA dans le riz commercialisé dans la région de Rabat- Salé. Les résultats obtenus ont montré que l'OTA contamine fortement les échantillons du riz analysés (90%). Les niveaux de contamination varient entre 0,02 et 32,4 µg/kg. La teneur de l'OTA dans 15% d'échantillons analysés a dépassé les teneurs maximales admissibles fixées par la réglementation européenne (5 µg/kg). La contamination de certaines céréales disponibles sur le marché marocain par l'OTA, nous a poussé à rechercher cette mycotoxine dans un aliment quotidien à haute valeur nutritionnelle pour la population marocaine à savoir le pain. Cet aliment stratégique est très consommé par la population mondiale. L'OMS recommande une consommation moyenne de 250 g/jour correspondant à 90 kg/an. On estime que la consommation moyenne du pain au Maroc avoisine 210 kg/personne/an, cette prise de pain est considérée parmi les plus élevées à l'échelle internationale. La recherche de l'OTA dans 100 échantillons de pain commercialisés dans cinq différentes villes du pays (Casablanca, Rabat, salé, Témara et Méknès) a révélé qu'un fort pourcentage de contamination de l'ordre de 48%. La moyenne de l'OTA est de l'ordre de 13 µg/kg. <sup>[144]</sup>

En se basant sur la consommation moyenne du pain au Maroc, nous avons estimé la prise journalière de l'OTA à partir du pain chez un sujet de 60 kg à 126 ng/kg pc/j, cette valeur est considérée 7 fois supérieure à la prise journalière tolérable fixée par les autorités européennes qui est de 17,1 ng/kg pc/j <sup>[171]</sup>et 9 fois supérieure à la prise tolérable fixée par le comité FAO/OMS qui est de l'ordre de 14 ng/kg pc/j.

Ces résultats indiquent que les céréales utilisées pour la fabrication du pain commercialisé dans les différentes boulangeries du pays sont contaminées par l'OTA ce qui indique que la population marocaine est fortement exposée aux effets toxiques de l'OTA et cette exposition peut être expliquée en partie la fréquence des cas de néphropathies enregistrés en particulier chez les jeunes marocains des deux sexes qui sont aux environs de 2 million de cas. Cependant cette hypothèse nécessite une confirmation et ce par la détermination de l'OTA

dans les produits biologiques (sérum, urines, lait maternel) chez des sujets sains et des patients présentant une néphropathie interstitielle chronique ou une insuffisance rénale chronique, ainsi que dans leur alimentation comme il a été effectué dans certains pays de la région méditerranéenne comme la Tunisie ayant un régime alimentaire similaire au Maroc.

### **1.2. Fruits secs.**

La population marocaine consomme de grandes quantités de fruits secs directement ou sous forme d'ingrédients dans des préparations traditionnelles préparées pendant les festivités et le mois de Ramadan. Plusieurs fruits consommés dans le pays sont importés (pistaches, cacahuètes...) et peu d'informations sur leur qualité sont disponibles.

Pour cela, des échantillons de raisins secs, de figes sèches, de noix et de cacahuètes ont été contrôlés pour leur pouvoir de renfermer de l'OTA. Les résultats ont montré que les incidences de l'OTA sont respectivement de l'ordre de 30, 65, 35, et 25%. Au Maroc, les techniques traditionnelles pour la transformation et la conservation des fruits sont toujours utilisées. Ces pratiques sont des conditions optimales (température, humidité etc...) pour la croissance des moisissures et la production des mycotoxines. En effet, le séchage naturel qui consiste en l'exposition directe des fruits au soleil, est largement utilisé spécialement en milieu rural.<sup>[172]</sup>

### **1.3. Epices en général.**

Certaines épices à l'état naturel constituent un milieu non favorable pour la croissance des moisissures et la production de mycotoxines. Les huiles essentielles du girofle et de la cannelle ont montré un effet inhibiteur sur la croissance d'*A. parasiticus* et de *F. moniliforme*. L'addition des extraits du girofle dans les épices a montré une inhibition considérable de la production des aflatoxines. Cependant nous avons noté qu'au Maroc certaines épices commercialisées (le gingembre et le piment) sont frauduleusement additionnées par d'autres produits comme la farine du blé (luxé) en insistant sur un ajout volontaire d'un colorant artificiel pour procurer la couleur normal de l'épice. Les épices sont dotées de propriétés de préservation et elles sont utilisées également comme antioxydants. Elles sont aussi utilisées en médecine traditionnelle, ce qui fait que leur valeur marchande est assez élevée dans le marché international. Les épices sont produites par les pays ayant un climat tropical ou subtropical et

dont la température, l'humidité et les précipitations sont importantes. Après leur récolte, les épices sont souvent laissées sur le sol dans une aire ambiante pour sécher. Ce qui constitue dans la majorité des cas des conditions idéales pour la croissance des moisissures et la production de mycotoxines. Les épices (poivre, piment, cumin, gingembre etc.) sont largement utilisées dans plusieurs pays du monde notamment en Afrique et en Asie. En cuisine marocaine, les épices sont utilisées notamment pour la préparation de plats chauds et délicieux comme « les Tagines et la Tangia », le « Couscous », ou encore « Rfissa » etc., et ce dans le but de développer des goûts particuliers ou une couleur adorée. Vu leur propriété antimicrobienne, certaines épices sont utilisées aussi dans la conservation traditionnelle de certains aliments comme le « Kaddid », le « Kliââ » etc.

Dans une étude que nous avons effectuée sur l'incidence des aflatoxines dans les échantillons d'épices commercialisées au Maroc, les résultats ont montré que le piment et le gingembre étaient plus contaminés en comparaison avec le poivre et le cumin <sup>[171]</sup>. Cependant le taux de contamination était faible et en dessous des normes internationales. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par Tantaoui-Elaraki et al., qui ont trouvé que la croissance des souches de moisissures toxigènes d'*A. flavus* était très faible sur le curcumin, le poivre blanc et le poivre noir. <sup>[173]</sup>

#### **1.4. Olives noires de table.**

La production d'olives au Maroc représente environ 6.9% de la production mondiale. Cependant le secteur reste moins développé. En effet, les méthodes traditionnelles de récolte, et le long stockage des fruits à des températures ambiantes (20-24 °C) agissent fortement sur la qualité des fruits. Les olives noires de tables sont préparées par un ancien processus qui consiste en un salage et un séchage. Les olives noires récoltées sont salées et remplies dans des sacs et laissées pour maturation spontanée à l'air libre. Ces conditions sont favorables à la croissance des moisissures. Tantaoui-Elaraki et al., ont isolé à partir des olives des souches toxigènes d'*A. flavus* and *A. ochraceus* produisant les aflatoxines et les ochratoxines <sup>[9]</sup>. Ces données nous ont poussé à rechercher l'OTA parmi des échantillons d'olives noires en vente chez les détaillants dans la région de Rabat-Salé. Les résultats ont montré que sur 25 échantillons totaux, 9 échantillons étaient contaminés par de faibles teneurs d'OTA. <sup>[11]</sup>

2. Arrêté conjoint du ministre de l'agriculture et de la pêche maritime et du ministre de la santé n°1643-16 du 23 chaabane 1437 (30 mai 2016).

Rabat, le 23 Chaabane 1437(30 mai 2016)

Le ministre de l'agriculture et de la pêche maritime, AZIZ AKHANNOUCH  
Le ministre de la santé, EL HOUSSAINE LOUARDI

Arrêté conjoint du ministre de l'agriculture et de la pêche maritime et du ministre de la santé n°1643-16 du 23 chaabane 1437 (30 mai 2016) fixant les limites maximales autorisées des contaminants dans les produits primaires et les produits alimentaires.

(BO n°6514 du 03/11/2016, page 1681)

LE MINISTRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE MARITIME,

LE MINISTRE DE LA SANTE,

Vu le décret n°2-10-473 du 7 chaoual 1432 (6 septembre 2011) pris pour l'application de certaines dispositions de la loi n°28-07 relative à la sécurité sanitaire des produits alimentaires, notamment son article 53,

Catégories	Produit primaire ou produit alimentaire	Limites maximales $\mu\text{g}/\text{kg}$			Seuil d'alerte ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Date limite d'application des seuils d'alerte
2.1	<i>Aflatoxines</i>	B1	Somme de B1, B2, G1 et G2	M1	M1	
2.1.1	Arachides et autres graines oléagineuses, noisettes et noix du	8,0	15,0	-	-	-

Brésil destinées à être soumises à un traitement de tri ou à d'autres méthodes physiques avant consommation humaine ou utilisation comme ingrédients de produits alimentaires, sauf si elles sont destinées à être broyées pour la fabrication d'huile végétale raffinée

<b>2.1.2</b>	Amandes, pistaches et noyaux d'abricot destinés à être soumis à un traitement de tri ou à d'autres méthodes physiques avant consommation humaine ou utilisation comme ingrédients de produits alimentaires	<b>12,0</b>	<b>15,0</b>	-	-	-
<b>2.1.3</b>	Fruits à coque, exception faite des fruits à coque énumérés aux points 2.1.1 et 2.1.2, destinés à être soumis à un traitement de tri, ou à d'autres méthodes physiques avant consommation humaine ou utilisation comme ingrédient de produits alimentaires	<b>5,0</b>	<b>10,0</b>	-	-	-
<b>2.1.4</b>	Arachides et autres graines oléagineuses et produits dérivés de leur transformation, destinés à la consommation humaine directe ou à une utilisation comme ingrédients de produits alimentaires à l'exception: -des huiles végétales	<b>2,0</b>	<b>4,0</b>	-	-	-

	brutes destinées à être raffinées -des huiles végétales raffinées					
<b>2.1.5</b>	Amandes, pistaches et noyaux d'abricot destinés à la consommation humaine directe ou à une utilisation comme ingrédients de produits alimentaires.	<b>8,0</b>	<b>10,0</b>	-	-	-
<b>2.1.6</b>	Noisettes et noix du Brésil destinées à la consommation humaine directe ou à une utilisation comme ingrédients de produits alimentaires	<b>5,0</b>	<b>10,0</b>	-	-	-
<b>2.1.7</b>	Fruits à coque, exception faite des fruits à coque énumérés aux points 2.1.5. et 2.1.6, et produits dérivés de leur transformation destinés à la consommation humaine directe ou à une utilisation directe comme ingrédient de produits alimentaires	<b>2,0</b>	<b>4,0</b>	-	-	-
<b>2.1.8</b>	Fruits séchés, autres que les figes sèches, destinés à être soumis à un traitement de tri ou à d'autres méthodes physiques avant consommation humaine ou utilisation comme ingrédients de produits alimentaires	<b>5,0</b>	<b>10,0</b>	-	-	-
<b>2.1.9</b>	Fruits séchés, autres que les figes sèches, et produits dérivés de leur transformation, destinés à la consommation	<b>2,0</b>	<b>4,0</b>	-	-	-

	humaine directe ou à une utilisation comme ingrédients de produits alimentaires					
<b>2.1.10</b>	Figues sèches	<b>6,0</b>	<b>10,0</b>	-	-	-
<b>2.1.11</b>	Toutes les céréales et tous les produits dérivés de céréales, y compris les produits de céréales transformés, à l'exception des produits alimentaires figurant aux points 2.1.12, 2.1.15 et 2.1.17	<b>2,0</b>	<b>4,0</b>	-	-	-
<b>2.1.12</b>	Maïs et riz destinés à être soumis à un traitement de triage ou à d'autres méthodes physiques avant consommation humaine ou utilisation comme ingrédients de produits alimentaires.	<b>5,0</b>	<b>10,0</b>	-	-	-
<b>2.1.13</b>	Lait cru, lait traité thermiquement et lait destiné à la fabrication de produits à base de lait	-	-	-	<b>0,05</b>	<b>3 ans</b>
<b>2.1.14</b>	<b>Catégories suivantes d'épices:</b> <i>Capsicum</i> spp. (fruits séchés dérivés, entiers ou en poudre, y compris les piments, la poudre de piment, le poivre de Cayenne et le paprika) <i>Piper</i> spp. (fruits dérivés, y compris le poivre blanc et le poivre noir) <i>Myristica fragrans</i> (noix de muscade) <i>Zingiber officinale</i> (gingembre) <i>Curcuma longa</i> (safran des Indes)	<b>5,0</b>	<b>10,0</b>	-	-	-

	Mélanges d'épices contenant une ou plusieurs des épices susmentionnées					
<b>2.1.15</b>	Préparations à base de céréales et aliments pour bébés destinés aux nourrissons et aux enfants en bas âge	<b>0,10</b>	-	-	-	-
<b>2.1.16</b>	Préparations pour nourrissons et préparations de suite, y compris le lait pour nourrissons et le lait de suite	-	-	<b>0,025</b>	-	-
<b>2.1.17</b>	Aliments diététiques destinés à des fins médicales spéciales, spécifiquement pour les nourrissons	<b>0,10</b>	-	<b>0,025</b>	-	-

## 2.2

	<i>Ochratoxines A</i>	Limites maximales (µg /kg)	Seuil d'alerte (µg /kg)	Date limite d'application des seuils d'alerte
<b>2.2.1</b>	Céréales brutes	<b>5,0</b>	-	-
<b>2.2.2</b>	Tous les produits dérivés de céréales brutes, y compris les produits de céréales transformées et les céréales destinés à la consommation humaine directe, à l'exception des produits alimentaires figurant aux points 2.2.9, 2.2.10 et 2.2.14	<b>3,0</b>	-	-
<b>2.2.3</b>	Raisins secs (raisins de Corinthe, sultanines et autres raisins secs)	-	<b>10,0</b>	<b>3 ans</b>
<b>2.2.4</b>	Grains de café torréfié et café torréfié moulu, à l'exception du	<b>5,0</b>	-	-

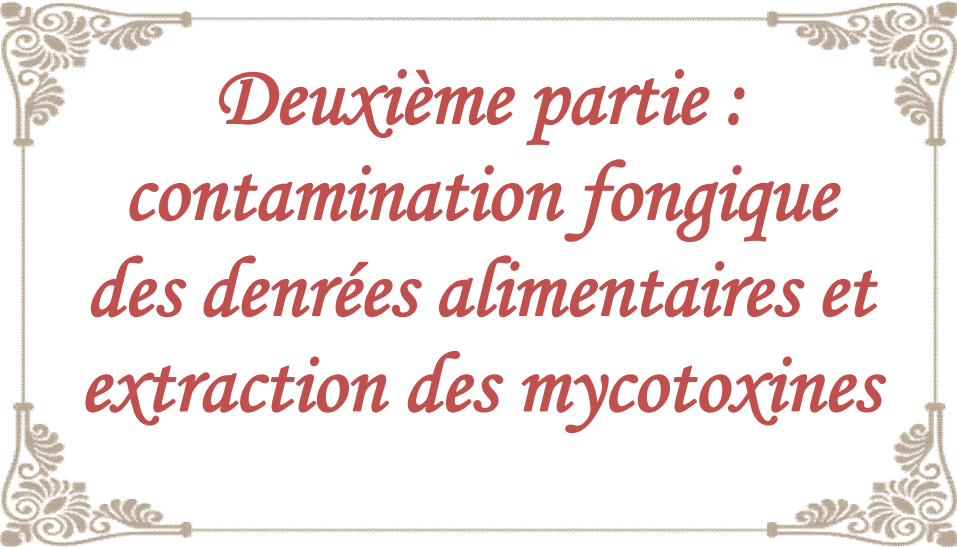
café soluble				
<b>2.2.5</b>	Café soluble (café instantané)	<b>10,0</b>	-	-
<b>2.2.6</b>	Vins (y compris les vins mousseux, mais à l'exclusion des vins de liqueur et des vins ayant un titre alcoométrique volumique minimal de 15%) et vins de fruits	-	<b>2,0</b>	<b>3 ans</b>
<b>2.2.7</b>	Vins aromatisés, boissons aromatisées à base de vin et cocktails aromatisés de produits vitivinicoles	-	<b>2,0</b>	<b>3 ans</b>
<b>2.2.8</b>	Jus de raisin, jus de raisin concentré reconstitué, nectar de raisin, moût de raisins et moût de raisins concentré reconstitué, destinés à la consommation humaine directe	-	<b>2</b>	<b>3ans</b>
<b>2.2.9</b>	Préparations à base de céréales et aliments pour bébés destinés aux nourrissons et enfants en bas âge	<b>0,5</b>	-	-
<b>2.2.10</b>	Aliments diététiques destinés à des fins médicales spéciales, spécifiquement pour les nourrissons	<b>0,5</b>	-	-
<b>2.2.11</b>	<p><b>Épices</b>, y compris séchées  Piper spp. (les fruits qui en proviennent, y compris le poivre blanc et le poivre noir)  Myristica fragrans (noix de muscade)  Zingiber officinale (gingembre)  Curcuma longa (safran des Indes)  Capsicum spp. (fruits séchés, entiers ou en poudre, y compris les piments, la poudre de piment, le poivre de Cayenne et le paprika)  Mélanges d'épices contenant une des épices susmentionnées</p>	<b>15</b>	-	-

2.2.12	Bois de réglisse ( <i>Glycyrrhiza glabra</i> , <i>Glycyrrhiza inflata</i> et autres espèces), ingrédient pour infusion	-	20	3 ans
2.2.13	Extrait de réglisse ( <i>Glycyrrhiza glabra</i> , <i>Glycyrrhiza inflata</i> et autres espèces), pour utilisation dans des produits alimentaires en particulier les boissons et les confiseries.	-	80	3 ans
2.2.14	Gluten de blé non vendu directement au consommateur	<b>8,0</b>	-	-
<b>2.3</b>	<b><u>Patuline</u></b>	<b>Limites maximales (µg /kg)</b>	<b>Seuil d'alerte (µg /kg)</b>	<b>Date limite d'application des seuils d'alerte.</b>
2.3.1	Jus de fruits, jus de fruits concentrés reconstitués et nectars de fruits	-	<b>50</b>	<b>4ans</b>
2.3.2	Boissons spiritueuses, cidre et autres boissons fermentées produites à partir de pommes ou contenant du jus de pomme	-	<b>50</b>	<b>4ans</b>
2.3.3	Produits à base de morceaux de pomme, tels que la compote de pommes et la purée de pommes, destinés à la consommation directe à l'exception des produits alimentaires figurant aux points 2.3.4 et 2.3.5	-	<b>25</b>	<b>4ans</b>
2.3.4	Jus de pomme et produits à base de morceaux de pomme, tels que la compote de pommes et la purée de pommes, destinés aux nourrissons et enfants en bas âge, et étiquetés et vendus comme tels	<b>10,0</b>	-	-
2.3.5	Aliments pour bébés, autres que les préparations à base de céréales, destinés aux nourrissons et enfants en bas âge.	<b>10,0</b>	-	-

<b>2.4</b>	<b><i>Déoxynivalénol</i></b>	<b>Limites maximales (µg /kg)</b>	<b>Seuil d'alerte (µg /kg)</b>	<b>Date limite d'application des seuils d'alerte</b>
<b>2.4.1</b>	Céréales brutes autres que le blé dur, l'avoine, le riz et le maïs	-	<b>1250</b>	<b>4ans</b>
<b>2.4.2</b>	Blé dur et avoine bruts	-	<b>1750</b>	<b>4ans</b>
<b>2.4.3</b>	Maïs brut à l'exception du maïs brut destiné à être transformé par mouture humide	<b>1750</b>	-	-
<b>2.4.4</b>	Céréales destinées à la consommation humaine directe, farine de céréales, son et germe en tant que produit fini commercialisé pour la consommation humaine directe, à l'exception des produits alimentaires figurant aux points 2.4.7, 2.4.8 et 2.4.9 et des produits à base de riz	-	<b>750</b>	<b>4ans</b>
<b>2.4.5</b>	Pâtes sèches	-	<b>750</b>	<b>4ans</b>
<b>2.4.6</b>	Pain (y compris les petits produits de boulangerie), pâtisseries, biscuits, collations aux céréales et céréales pour petit-déjeuner	-	<b>500</b>	<b>4ans</b>
<b>2.4.7</b>	Préparations à base de céréales et aliments pour bébés destinés aux nourrissons et enfants en bas âge	<b>200</b>	-	-
<b>2.4.8</b>	Fractions de mouture de maïs dont la taille des particules est >500 microns	<b>750</b>	-	-
<b>2.4.9</b>	Fractions de mouture de maïs dont la taille des particules est ≤ 500 microns.	<b>1250</b>	-	-

<b>2.5</b>	<b>Zéaralénone</b>	<b>Limites maximales (µg /kg)</b>	<b>Seuil d'alerte (µg /kg)</b>	<b>Date limite d'application des seuils d'alerte</b>
<b>2.5.1</b>	Céréales brutes autres que le maïs et le riz	-	<b>100</b>	<b>4ans</b>
<b>2.5.2</b>	Maïs brut à l'exception du maïs brut destiné à être transformé par mouture humide	<b>350</b>	-	-
<b>2.5.3</b>	Céréales destinées à la consommation humaine directe, farine de céréales, son et germe en tant que produit fini commercialisé pour la consommation humaine directe, à l'exception des produits alimentaires figurant aux points 2.5.6, 2.5.7, 2.5.8 et 2.5.9 et des produits à base de riz	-	<b>75</b>	<b>4ans</b>
<b>2.5.4</b>	Huile de maïs raffinée	-	<b>400</b>	<b>4ans</b>
<b>2.5.5</b>	Pain (y compris les petits produits de boulangerie), pâtisseries, biscuits, collations aux céréales et céréales pour petit-déjeuner, à l'exclusion des collations au maïs et des céréales pour petit-déjeuner à base de maïs	-	<b>50</b>	<b>4ans</b>
<b>2.5.6</b>	Maïs destiné à la consommation humaine directe, collations à base de maïs et céréales pour petit-déjeuner à base de maïs	<b>100</b>	-	-
<b>2.5.7</b>	Préparations à base de céréales et aliments pour bébés destinés aux nourrissons et enfants en bas âge	<b>20</b>	-	-

<b>2.5.8</b>	Fractions de mouture de maïs dont la taille des particules est >500 microns	<b>200</b>	-	-
<b>2.5.9</b>	Fractions de mouture de maïs dont la taille des particules est ≤ 500 microns.	<b>200</b>	-	-
<b>2.6</b>	<b><i>Fumonisines (somme B1+B2)</i></b>	<b>Limites maximales (µg /kg)</b>	<b>Seuil d'alerte (µg /kg)</b>	<b>Date limite d'application des seuils d'alerte</b>
<b>2.6.1</b>	Maïs brut à l'exception du maïs brut destiné à être transformé par mouture humide	<b>4000</b>	-	-
<b>2.6.2</b>	Maïs destiné à la consommation humaine directe, aliments à base de maïs destinés à la consommation humaine directe, à l'exception des aliments figurant aux points 2.6.3 et 2.6.4	<b>1000</b>	-	-
<b>2.6.3</b>	Céréales pour petit-déjeuner à base de maïs et collations à base de maïs	<b>800</b>	-	-
<b>2.6.4</b>	Préparations à base de maïs et aliments pour bébés destinés aux nourrissons et enfants en bas âge	<b>200</b>	-	-
<b>2.6.5</b>	Fractions de mouture de maïs dont la taille des particules est >500 microns	<b>1400</b>	-	-
<b>2.6.6</b>	Fractions de mouture de maïs dont la taille des particules est ≤ 500 microns.	<b>2000</b>	-	-



*Deuxième partie :  
contamination fongique  
des denrées alimentaires et  
extraction des mycotoxines*

## **Introduction.**

Les mycotoxines, contaminants naturels de la chaîne alimentaire, retiennent de plus en plus l'attention dans le monde entier en raison des pertes économiques importantes qui sont liées à leurs effets sur la santé de l'Homme, la productivité animale et le commerce national et international. Ces métabolites secondaires peu volatils, élaborés par diverses moisissures, sont responsables de mycotoxicoses pouvant être graves.

Les voies de contamination humaine ou animale possibles sont l'ingestion, l'inhalation, le contact cutané et l'allaitement. Les intoxications aiguës sont cependant rares en raison des faibles quantités pouvant être ingérées avec des aliments contaminés. L'intoxication chronique est souvent à craindre en raison d'un effet cumulatif des doses.

La biosynthèse des mycotoxines est dépendante de plusieurs facteurs, dont la température, l'intensité lumineuse, l'oxygène, les éléments nutritifs disponibles et la présence d'autres micro-organismes en compétition. Il y aurait, selon les auteurs, jusqu'à 400 mycotoxines répertoriées.

En raison de son climat chaud et humide, de sa position géographique, des habitudes alimentaires particulières de sa population et des conditions de stockage et de manutention des denrées alimentaires, le Maroc est un pays favorable au développement des moisissures toxigènes et à la contamination conséquente de la chaîne alimentaire en mycotoxines.

Parmi les mycotoxines identifiées, les mieux connues sont les aflatoxines, l'OTA (ochratoxine A).

Face à ce fléau, plusieurs stratégies de lutte se sont mises en place afin de limiter le développement fongique sur les denrées alimentaires et la production ultérieures de mycotoxines tout au long de la chaîne alimentaire. Cependant, l'élimination totale des moisissures et de leurs toxines est pratiquement impossible, c'est pourquoi il semble important de compléter le panel des mesures préventives par l'emploi d'agents capables de décontaminer les denrées alimentaires par élimination, destruction ou inactivation des mycotoxines

présentes. Des méthodes biologiques, chimiques et physiques se sont développées pour la décontamination des mycotoxines.

✓ **Objectifs :**

- L'étude de la contamination fongique des produits de base largement utilisés dans la cuisine marocaine.
- L'extraction à partir de ces produits des mycotoxines éventuelles (Aflatoxines B1, B2, G1, G2 et Ochratoxine A).

## **I. . MATERIEL ET METHODES.**

### **Type, période et lieu de l'étude.**

Il s'agit d'une étude prospective menée au Service de Parasitologie-Mycologie de l'Hôpital Militaire d'instruction Mohammed V de Rabat. Ce travail est étalé sur une période de 4 mois d'étude (Septembre à Décembre 2017).

### **A. Contamination fongique des denrées alimentaires.**

#### **I. Matériel.**

##### **I.1. Echantillons à analyser.**

L'étude mycologique a été réalisée sur un total de 22 échantillons alimentaires dont : le café Dubois moulu, café en capsules de la marque *ESPRESSO* et 5 arômes de *Nespresso*, le thé moulu de la marque *Soultane*, poudre de chocolat de la marque *Nesquiket* certains condiments tels que le cumin, le poivre, le piment rouge et du gingembre qui ont été prélevés sur différents points de vente de la ville de Rabat et sous différentes formes : en vrac de la Médina, en vrac d'une grande surface et conditionné (sachet) de la marque *Javana*, de telle sorte que les échantillons prélevés soient de différentes origines et ce dans le but d'avoir une hétérogénéité des prélèvements.

Au total, 13 échantillons d'épices, 7 échantillons de café, 1 échantillon de Thé et 1 échantillon de poudre de chocolat.

##### **I.2. Matériel.**

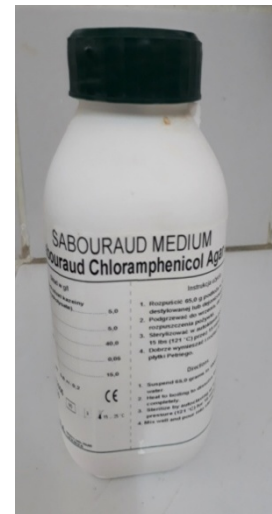
- Anse
- Balance précise pour peser les différents échantillons.
- 2 Becs bunsen pour une zone aseptique.
- Bleu coton
- Boites de Pétri pour la culture.

- Etuve pour l'incubation des Boites de Pétriensemencées.
- Fiole jaugée de 1000ml pour la préparation du milieu de culture.

➤ **Milieu de culture Sabouraud au chloramphenicol** (*Raymond Sabouraud*)

Composition dans 1L

Hydrolysate enzymatique de caséine.....	5g
Extrait de bœuf.....	5g
Dextrose.....	40g
Agar .....	15,0g
Chloramphénicol .....	0,05g



- Lame, lamelle
- Microscope
- Ruban adhésif utilisé dans le test de Scotch.
- Spatule pour prélever et déposer les échantillons dans le milieu de culture.

## II. Méthodes.

### II.1 Réception et étiquetage des échantillons.

Une fois au laboratoire de parasitologie-mycologie, les échantillons ont été mis séparément dans des pots stériles numérotés et conservés dans les conditions ambiantes.



**Figure 18 : Répartition des échantillons dans des pots stériles numérotés.**

1 : Café    3 : poudre de chocolat    4 : Cumin    6 : Piment rouge  
 2 : Thé    5 : Poivre    7 : Gingembre

A, B, C : Les différentes origines de chaque échantillon : (A : en vrac de la Médina ; B : en vrac d'une grande surface ; C : conditionné )

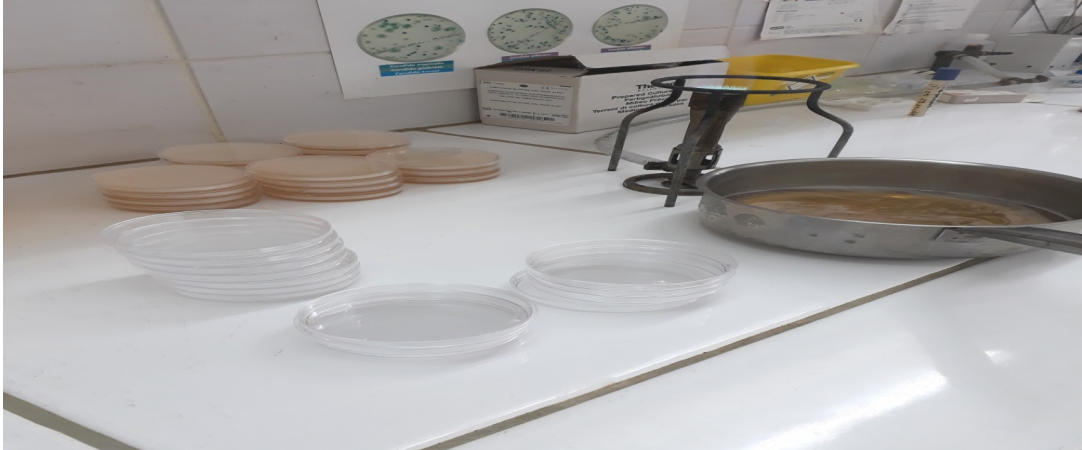
## **II.2 Culture, isolement et identification.**

Durant notre étude, nous avons utilisé le milieu *Sabouraud au chloramphénicol* qui est le principal milieu d'enrichissement de base qui favorise la culture des champignons microscopiques grâce à son pH relativement acide et l'étude morphologique des levures.

L'incubation a été faite à la température 20 - 25 °C pendant 5 à 7 jours. La lecture à partir de ce milieu s'est faite après 24 à 48 heures pour les levures, et à partir de 4 jours pour les champignons filamenteux.

➤ *Préparation du milieu de culture :*

Nous avons mis en suspension 45,5g de milieu de base « **Sabouraud au chloramphénicol** » en poudre dans un litre d'eau stérile qui sera portée lentement à ébullition sous agitation. Une fois tous les ingrédients sont dissouts, le milieu de culture ainsi préparé est répartie dans des boîtes de Pétri stériles, puis laissé solidifier, sur une surface froide et plane.



**Figure 19 : Répartition du milieu *Sabouraud* dans des Boîtes de Pétri.**

➤ *Préparation des échantillons.*

4g de chaque échantillon ont été déposés aseptiquement à la surface des boites de pétri contenant le milieu de base **Sabouraud**. Ces dernières ont été incubées à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 14 à 20 jours. Les observations visuelles ont été effectuées toutes les 24h et les colonies présentant l'aspect général des différents genres ont été prélevées à l'aide de l'anse de platine.

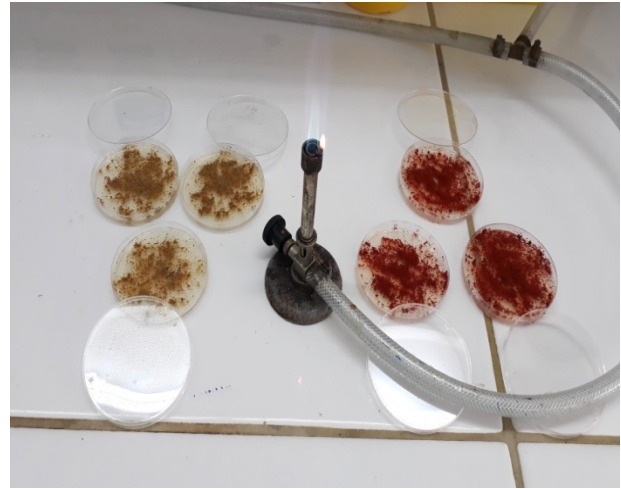


Figure 20: Incubation des échantillons à 26.3°C Figure 21: Cumin et piment rouge sur *Sabouraud*

### i. Méthodes d'identification des souches fongiques.

L'identification des moisissures a reposé essentiellement sur l'observation des critères morphologiques révélés par un examen macroscopique soigneux aux divers stades du développement et de l'observation microscopique des organes de fructification (asexués et sexués) et du mycélium d'autre part.

#### • Critères d'identification macroscopiques.

L'examen des cultures a été fait à l'œil nu ou à la loupe. Les caractères cultureux étudiés ont été :

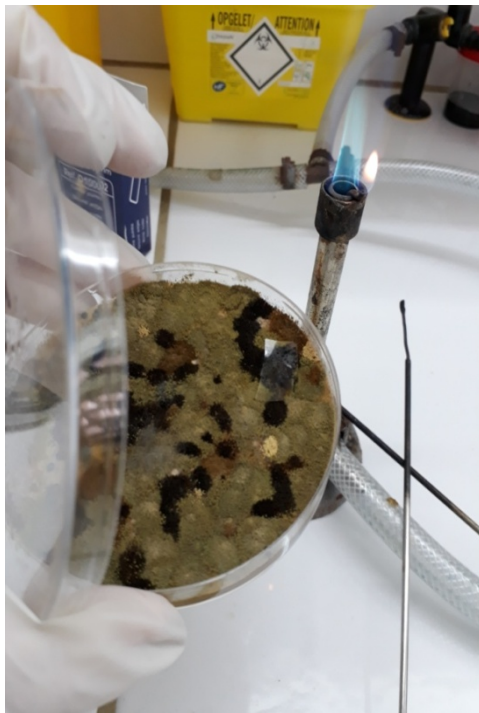
- ✓ **Couleur des colonies** (envers et endroit) et leur variation dans le temps, couleur et changement de couleur du milieu, la texture de la surface
- ✓ **Texture** : Laineuse, duveteuse, poudreuse, glabre.
- ✓ **Topographie** : Plane, surélevée, cérébriforme, avec stries radiales.
- ✓ **Vitesse de croissance (diamètre de la colonie à 7 jours)** : Rapide, modérée, lente
- ✓ **Structures de fructification**

- **Critères d'identification microscopique.**

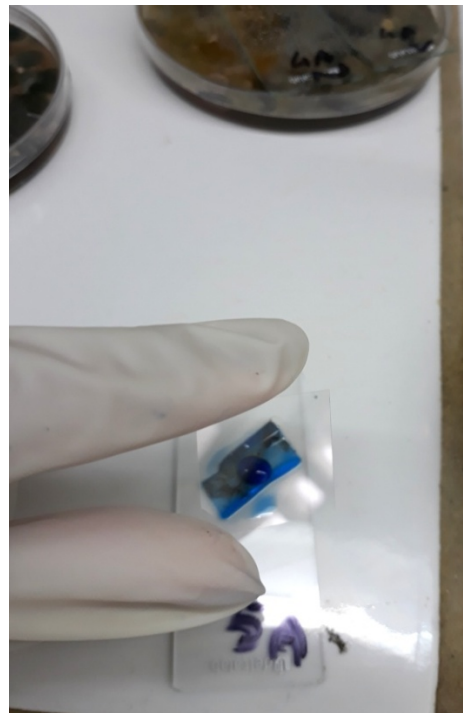
L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait grâce à des préparations à l'état frais (entre lame et lamelle) au Bleu Coton. Généralement, un examen à l'objectif 40 était suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments important de diagnose.



**Figure 22: Test de scotch au bleu coton.**



**Figure 23: Test de scotch sur B.P contenant du cumin contaminé**



**Figure 24: Examen direct au bleu coton**

Les moisissures isolées ont été identifiées selon des critères morphologiques répertoriés en fonction des caractères suivants : hyphes cloisonnées ou non, caractéristiques et type de conidiogénèse, étude microscopique du mycélium, morphologie et structure des spores ou conidies, nature des organes différenciés.

## **B. Extraction des cultures des mycotoxines**

### **I. Matériel et réactifs**

#### **I.1. Matériel.**

Les différentes analyses ont été réalisées sur un système de chromatographie liquide ultra-performance (Waters Acquity UPLC) couplé à un spectromètre de masse à triple quadripole (TQD, Waters). Le système est piloté par le logiciel MassLynx® (version 4.1) et les quantifications ont été faites par l'application TargetLynx®. Ce système est noté LC-MSMS.

**✚ *Performance et principe de la méthode analytique chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse.***

La spectrométrie de masse est souvent couplée à une méthode de séparation telle que la chromatographie liquide (LC) ou la chromatographie gazeuse (GC).

Cette méthode est de plus en plus utilisée pour quantifier plusieurs mycotoxines ou métabolites associés, elle est sensible et sélective, et permet d'obtenir la masse moléculaire d'un composé par analyse du rapport  $m/z$  (masse/charge) et de corrélérer son spectre de masse avec sa structure.

Les différentes mycotoxines sont séparées sur une échelle de temps par leur élution différentielle, ce qui permet l'évaluation dans l'espace de l'ensemble des entités moléculaires présentes dans un échantillon.

**✚** L'association d'une méthode séparative et d'une méthode d'identification permet une élucidation commode des structures des composants d'un mélange complexe.

**✚** La spécificité et la possibilité de quantifier plusieurs mycotoxines en une fois, la sensibilité et la simplification de la préparation de l'échantillon font que la LC-MS/MS est pour le moment la technique la plus prometteuse en analyse de mycotoxines.



**Figure 25: Appareillage de LC-MSMS**

## **I.2 Réactifs**

- Acétonitril (qualité spectrométrie de masse).
- Eau ultrapure (Résistivité : 18,2 M $\Omega$ .cm à 25°C, Conductivité : 0,055  $\mu$ S/cm à 25°C) produite par un système Milli-Q (Millipore ; France)
- Erlenmeyer de 150 ml.

## **II. Méthodes :**

### **II.1 Préparation d'échantillons et extraction des mycotoxines.**

Tout le matériel est préalablement nettoyé par l'Acétonitril et rincé avec de l'eau. Une quantité de 25 g de l'échantillon est mélangée avec 100 ml de Acétonitril /eau (80/20) pendant 2 h, les proportions sont parfois ajustées en fonction de la quantité disponible de l'échantillon. Le mélange est par la suite filtré et dilué 4 fois avec de l'eau, 20  $\mu$ l de la dilution sont injectées dans le système LC-MSMS. Les échantillons sont réduits broyés avec un « blinder » en cas de besoin (exemple: *rhizome du gingembre*).

## **II.2 Conditions analytiques du LCMSMS.**

- ❖ Le système chromatographique est un UPLC-MSMS (LCMSMS).
- ❖ La colonne : BEH C18 1.7 µm; 2,1 x 100 mm (Waters).
- ❖ Température de la colonne : 40°C
- ❖ Débit : 0,4 ml/min
- ❖ Phase mobile : Phase A : Eau avec 1 % d'acide formique  
Phase B : Acetonitrile avec 1 % d'acide formique en mode gradient.
- ❖ Durée d'analyse : 15min par échantillon.
- ❖ Volume d'injection : 20 µl
- ❖ Température de l'injecteur : 10°C

## **II.3 Conditions du spectromètre de masse.**

- ❖ Mode d'ionisation : Electrospray en mode positif (ESI+)
- ❖ Voltage de capillaire : 4000 V
- ❖ Voltage du cône : Variable
- ❖ Gaz de désolvatation : Azote, 800 L/h, 450°C
- ❖ Gaz du cône : Azote 5 L/h
- ❖ Température de la source : 120°C
- ❖ Gaz de collision : Argon à 3,5 x 10<sup>-3</sup> mBar.
- ❖ Mode d'acquisition : *Multiple reaction monitoring* (MRM) à deux transitions par composé.

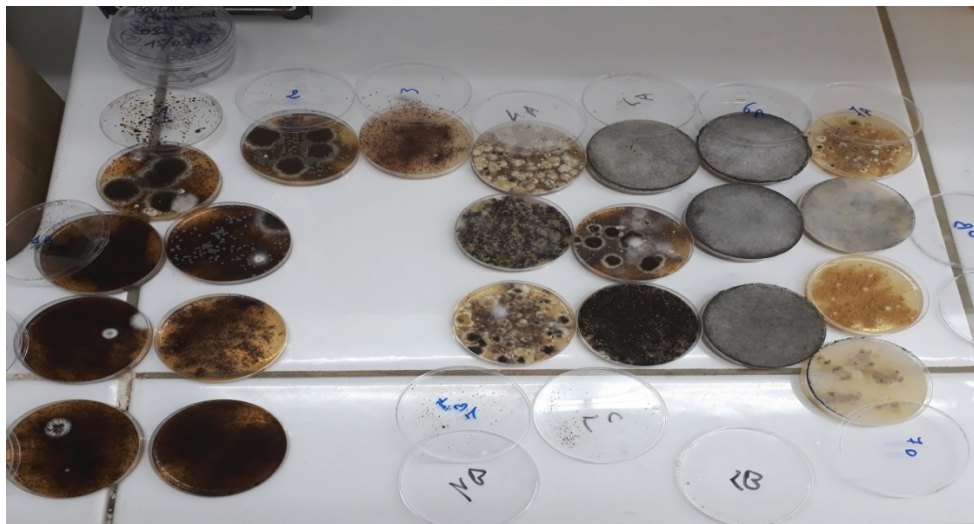
## **III. Mycotoxines recherchées.**

Durant cette étude, nous avons recherché les mycotoxine suivantes :

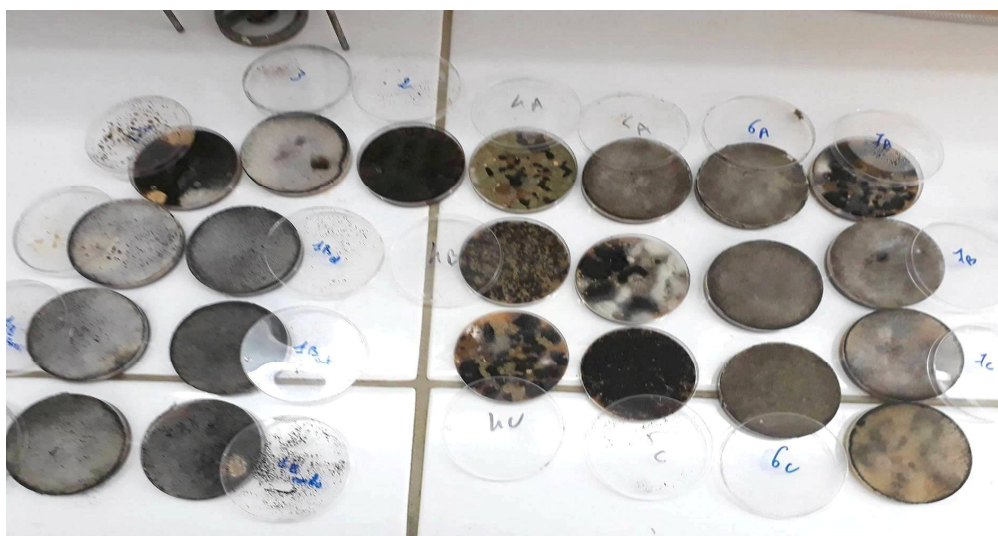
- Aflatoxines B1, B2, G1, G2
- Ochratoxine A

## II. RESULTATS.

L'étude mycologique a révélé que les 22 produits alimentaires analysés, étaient contaminés par des moisissures, soit un taux global de contamination fongique de 100%



**Figure 26: Moisissures présentes dans les différents échantillons après 7 jours d'incubation.**



**Figure 27: Moisissures présentes dans les différents échantillons après 14 jours d'incubation.**

1 : Café    3 : Poudre de chocolat    4 : Cumin    6 : Piment rouge

2 : Thé    5 : Poivre    7 : Gingembre

A, B, C : Les différentes origines de chaque échantillon : (A : en vrac de la Médina ; B : en vrac d'une grande surface ; C : conditionné )

## A. Contamination fongique.

Les souches isolées appartiennent essentiellement aux genres *Aspergillus* : 77% : (*Asp niger* : 59% + *Asp flavus* 9% + *Asp fumigatus* + 4.5 %+ *Asp nidulans* 4.5%), *Penicillium* 18% *Mucorale* 90%. Ces derniers sont les plus fréquents, ils présentent un pourcentage d'échantillons positifs plus élevé que *Cladosporium herbarum* : 4.5%, *beauveria* : 4.5 % et *paecilomyces variotii* : 4.5%.

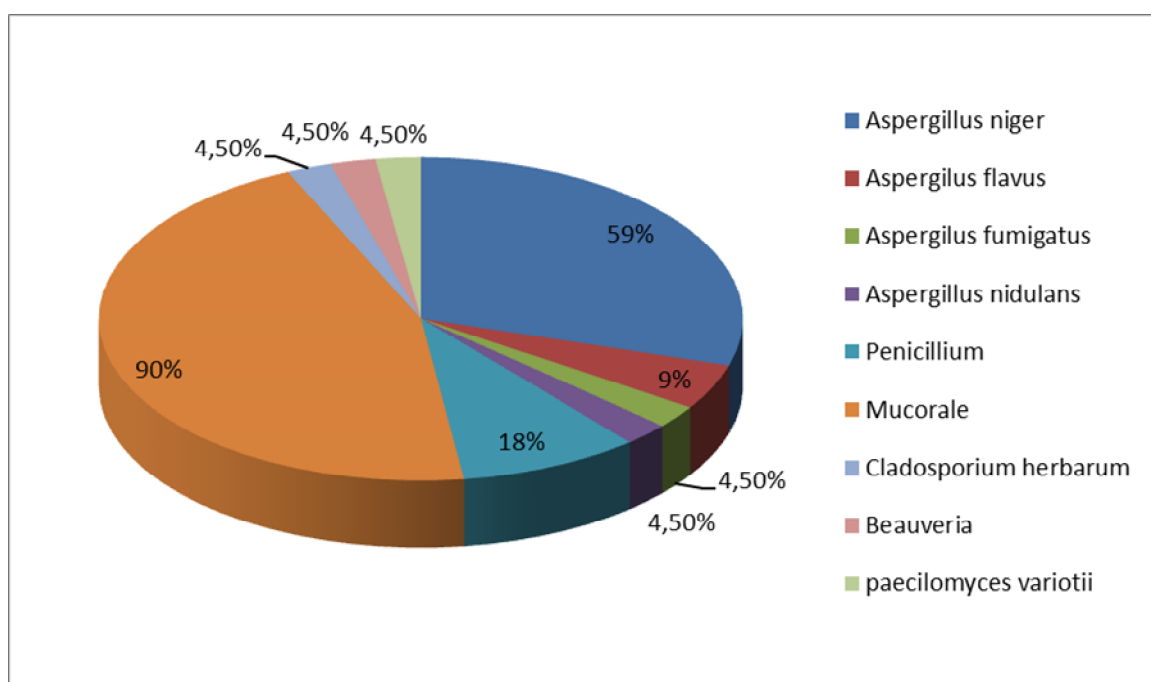
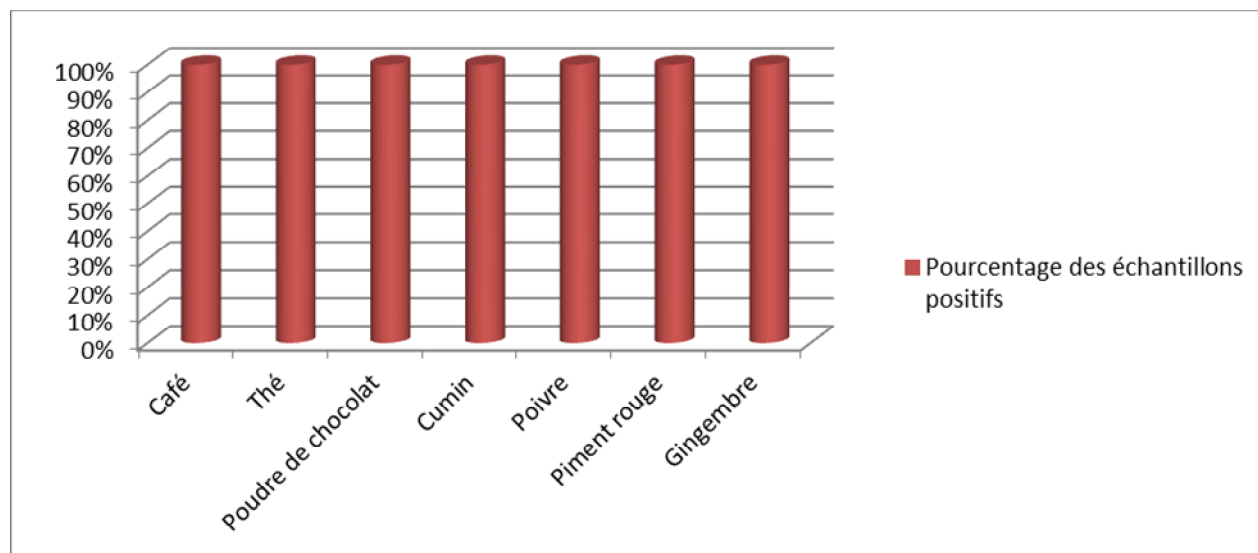


Figure 28 : Moisissures isolées des denrées alimentaires analysées en pourcentage.

Les échantillons étudiés pour chaque denrée alimentaire : Café, Thé, poudre de Chocolat, Cumin, Poivre, Piment rouge, Gingembre sont tous contaminés (100%).



**Figure 29: Pourcentage des échantillons positifs en fonction des denrées alimentaires.**

Les denrées alimentaires polycontaminées sont : Café moulu (22%), Café-capsule-ESPRESSO (22%), Café- capsule NESPRESSO Vanilio( 33%), le thé (33%), poudre de chocolat ( 22%) , le cumin (66%) , le poivre (33%) , le piment rouge (22%) , le gingembre (44%), contrairement aux capsules NESPRESSO cosi, Robusta uganda, Volluto Decaffeinato et Sachertorte qui sont monocontaminées (11%).

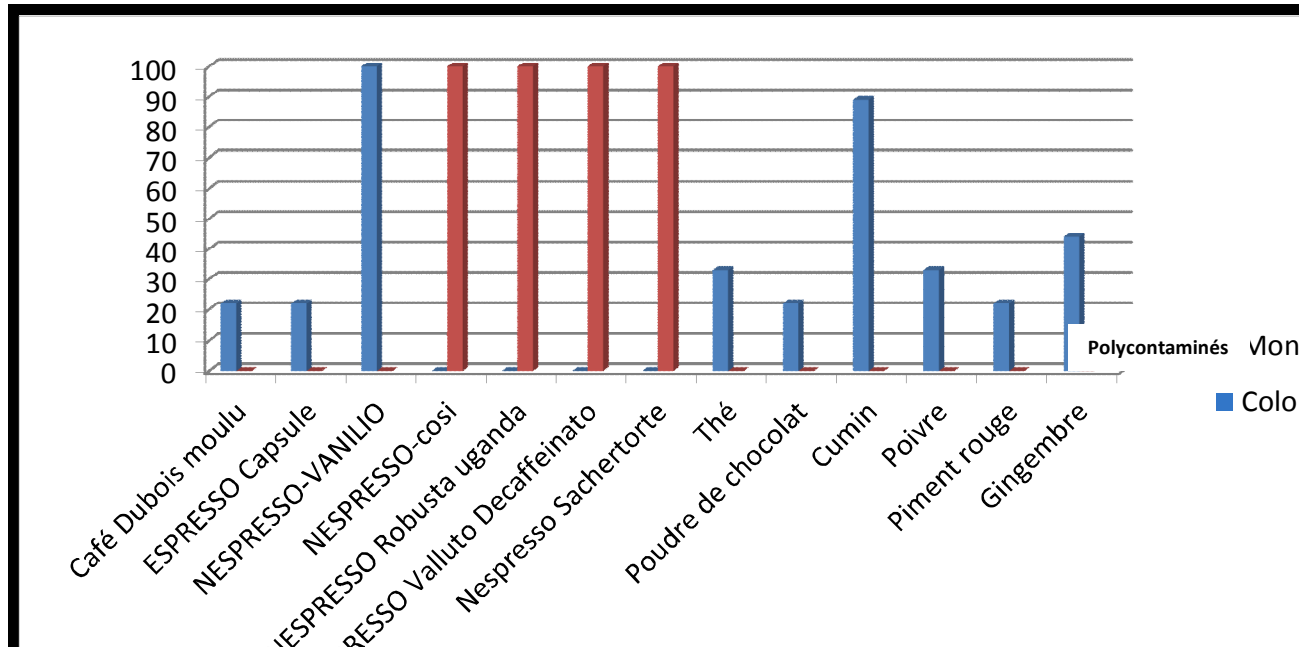


Figure 30: Pourcentage des échantillons polycontaminés, monocontaminés pour les différents échantillons.

### Résultats de l'étude mycologique de tous les échantillons.

Le tableau suivant représente l'identification des espèces fongiques retrouvées dans les échantillons du : Café, thé, poudre de chocolat, cumin, piment rouge, poivre et le gingembre.

**Tableau VIII: Différentes espèces fongiques présentes dans les 22 échantillons traités.**

Echantillons	Moisissures								
	<i>Asp niger</i>	<i>Asp, flavus</i>	<i>Asp. fumigatus</i>	<i>Asp. nidulans</i>	<i>Penicillium SP</i>	<i>Mucor</i>	<i>Cladosporium herbarum</i>	<i>Beauveria,</i>	<i>paecilomyces variotii</i>
Café Dubois	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Café-capsules Espresso	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Capsule Nespresso Vanilio	-	+	-	-	+	+	-	-	-
Capsule Nespresso <i>cosi,</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Capsule Nespresso <i>Robusta uganda</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Capsule Nespresso Valluto Decaffeinato	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Capsule Nespresso Sachertorte	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Thé	+	-	-	-	+	-	+	-	-
Chocolat (Nesquik)						+	+	-	-
Cumin (A)	+	-	-	+	-	+	-	-	-
Cumin (B)	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Cumin (C)	+	+	+	-	-	+	-	+	-

	<i>Asp. niger</i>	<i>Asp. flavus</i>	<i>Asp. fumigatus</i>	<i>Asp. nidulans</i>	<i>Penicillium Sp</i>	<i>Mucorale</i>	<i>Cladosporium herbarum</i>	<i>Beauveria</i>	<i>paecilomyces variotii</i>
Poivre (A)	+	-	-	-	+	-	-	-	-
Poivre (B)	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Poivre (C)	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Piment rouge (A)	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Piment rouge (B)	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Piment rouge (C)	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Gingembre (A)	+	-	-	-	+	+	-	-	-
Gingembre (B)		-	-	-	-	+	-		+
Gingembre (C)	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Gingembre (Rhizome)	-	-	-	-	-	+	-	-	-

1 : Café    3 : Poudre de chocolat    4 : Cumin    6 : Piment rouge  
2 : Thé    5 : Poivre    7 : Gingembre

A, B, C : Les différentes origines de chaque échantillon : (A : en vrac de la Médina ; B : en vrac d'une grande surface ; C : conditionné )

## B .Extraction des éventuelles cultures des mycotoxines.

Exemple de chromatogramme :L'analyse par couplage LC-MS/MS consiste à une première détection chromatographique par une chromatographie liquide avec détecteur à barrettes de diodes (LC-DAD), qui permet de mesurer directement l'absorbance sur plusieurs longueurs d'onde à la fois, et une deuxième détection par spectrométrie de masse des molécules préalablement séparées par chromatographie.

## a- Aflatoxines

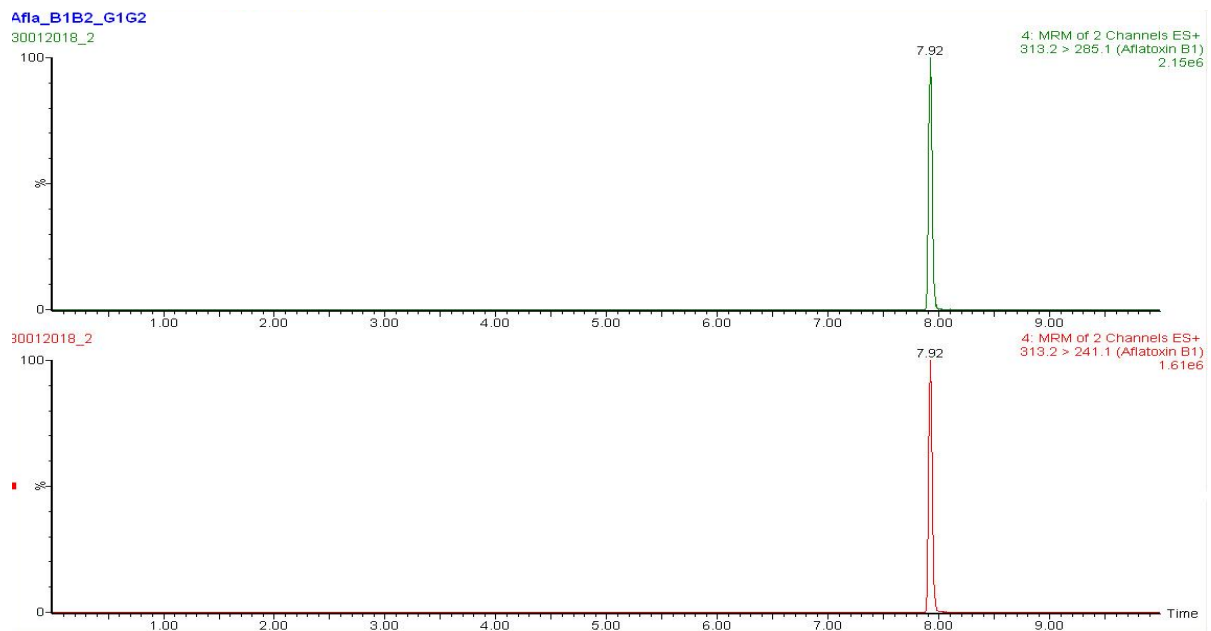


Figure 31: Chromatogramme de l'analyse d'aflatoxine.

## b- Ochratoxine A

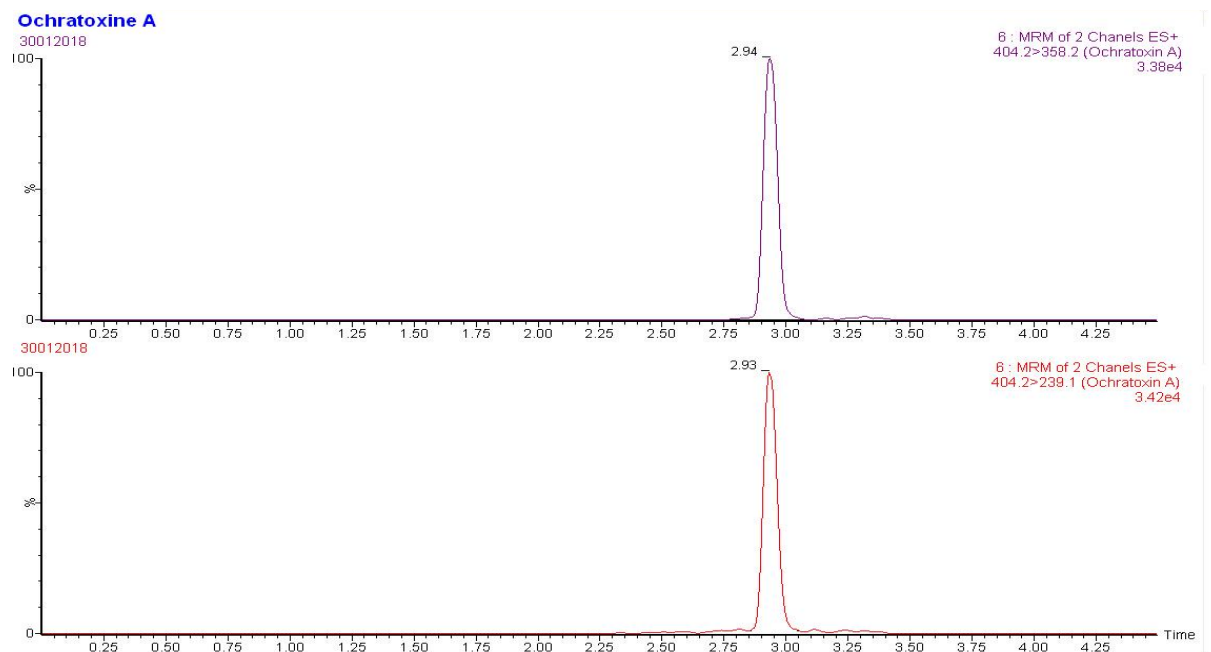


Figure 32: Chromatogramme de l'analyse de l'ochratoxine A.

➤ Résultats des analyses :

Tableau IX: Détection de la présence des mycotoxines dans les 22 échantillons traités.

Produit	Mycotoxine détectée	Concentration
Café Moulu (Dubois)	Non détectée	
Espesso Capsule	Non détectée	
Nespresso Capsule Cosi	Non détectée	
NespressoCapsule Sachertorte ...	Non détectée	
Nespresso Capsule Robusta uganda	Non détectée	
Nespresso capsule Valluto Decaffeinato	Non détectée	
Nespresso Capsule Vanilio	AFB1	0,004 µg/kg
Thé	AFB1	3,2 µg/kg
Chocolat	Non détectée	
Cumin (A)	AFB1	0,07 µg/kg
Cumin (B)	AFB1	0,05 µg/kg
Cumin (C)	AFB1	0,03 µg/kg
Poivre (A)	AFB1	0,16 µg/kg
	OTA	1,43 µg/kg
Poivre (B)	AFB1	0,12 µg/kg
Poivre (C)	AFB1	0,14 µg/kg
Piment rouge(A)	AFB1	3,11 µg/kg
Piment rouge (B)	AFB1	3,25 µg/kg
Piment rouge (C)	AFB1	1,28 µg/kg
Gingembre (A)	AFB1	1,31 µg/kg
Gingembre (B)	AFB1	0,73 µg/kg
Gingembre (C)	AFB1	1,12 µg/kg
Gingembre rhizome	AFB1	1,73 µg/kg
	OTA	3,1 µg/kg

1 : Café    3 : Poudre de chocolat    4 : Cumin    6 : Piment rouge  
 2 : Thé    5 : Poivre    7 : Gingembre

A, B ,C : Les différentes origines de chaque échantillon :A : en vrac de la Médina ; B : en vrac d'une grande surface ;C : conditionné.

### III. DISCUSSION.

La contamination des denrées alimentaires destinées à la consommation humaine et animale par les mycotoxines, pose un problème majeur de disponibilité et d'innocuité de l'approvisionnement alimentaire mondial (FAO). Un certain nombre de recommandations ont été formulées dans le but de minimiser les effets néfastes des mycotoxines sur l'économie et la santé. De nombreux programmes nationaux et internationaux ont ainsi été mis en place, pour limiter les risques posés par les mycotoxines et renforcer les mesures préventives voire curatives pour limiter les dommages liés aux moisissures et aux mycotoxines.

Notre étude a permis de mettre en évidence la flore fongique de différents substrats et le dosage de deux types de mycotoxines : Les aflatoxines B1 et les Ochratoxines A. De façon générale, certains de nos résultats sont en accord avec les données préexistantes au niveau de la littérature.

#### A. Discussion des résultats de l'étude mycologique.

Nos résultats ont montré les différentes espèces fongiques présentes dans chaque échantillon étalé sur le milieu sélectif *Sabouraud*. Nous constatons que les résultats obtenus sont variables en fonction du type, de la nature de l'échantillon analysé et des moisissures recherchées. Ainsi, le pourcentage des moisissures les plus élevées est représenté par *Aspergillus*, *Mucorale* et *Penicillium* qui ont été obtenues regroupés ou séparés et à différents pourcentages au niveau de tous les échantillons. Au total, 9 espèces fongiques ont été identifiées au cours de l'étude mycologique de l'ensemble des échantillons. Les principaux genres ainsi identifiés sont : *Mucorale*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Penicillium*, *Cladosporium herbarum*, *Beauveria* *Paecilomyces variotii*.

##### ➤ Café.

Les principales moisissures isolées au cours de ce travail sont *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Penicillium*, *Mucorale* (*Mucor* et *Rhizopus sp*). Tous ces genres fongiques ont déjà été enregistrés dans l'étude mycologique faite sur les différents types de café (Dubois, Nespresso,

Espresso). La contamination la plus importante est remarquée au niveau du café polycontaminé notamment les capsules Vanilio de la marque Nespresso et aussi au niveau du café Dubois et Espresso.<sup>[176-177]</sup>

Nos résultats se rapprochent de ceux de Noonim *et al.* (2008)<sup>[178]</sup> qui dans ces analyses faites sur des grains de café traités par voie sèche, a obtenu des profils fongiques identiques, et où le profil était constitué de : *A. carbonarius*, *A. niger*, les *Aspergillus* des sections *Flavi*, *Terrei* et *Versicolores*, *Fumigati*, *Penicillium sp.*<sup>[179]</sup> La même étude a trouvé qu'au cours du traitement par voie humide, la flore fongique était constituée de *A. westerdijkiae*, *A. niger*, *Penicillium sp.*, les *Aspergilli* des sections *Flavi*, *Terrei* et *Versicolores* et *Cladosporium sp.*

Suarez-Quiroz *et al.* (2004) a obtenu un résultat similaire sur une étude faite sur des grains de café mexicains ayant subi un traitement par voie sèche, voie humide et un traitement mécanique. Les *Aspergillus* noirs (*A. niger* et *A. carbonarius*) représentent le groupe prédominant des moisissures isolées dans les échantillons de café Camerounais, et leur occurrence est beaucoup plus élevée que celle rapportée sur les grains de café brésilien ou vietnamien.<sup>[180-182]</sup>

Selon Pitt et Hocking (1997), les *Aspergillus* entrent en compétition avec les genres *Fusarium* et *Penicillium* pour le même substrat, et leur incidence augmente dans les environnements ayant des températures élevées et de basse activité de l'eau ; qui sont là des conditions idéales retrouvées aux étapes finales du traitement du café notamment au cours du séchage et pendant le stockage.

Il apparaît donc que la biodiversité des souches fongiques présentes est très fortement liée au contexte géographique, écologique et humain (pratiques traditionnelles locales et conditions d'hygiène inégalement respectées).

Cette forte contamination peut provenir du fait que, pendant le séchage les grains de café sont en contact direct avec l'air et le sol, et aussi des conditions d'aération de l'enceinte de stockage constitué de grilles placées tout au long des murs non loin du toit (le contrôle de la température ambiante est impossible dans ces conditions), et enfin des aléas climatiques.

### ➤ Poudre de chocolat.

Présence de *Cladosporium herbarum*, *mucorale*.

Nos résultats diffèrent de ceux trouvés en 2008 au Brésil où une étude basée sur 21 produits à base de cacao (poudre de cacao). L'analyse microbiologique a permis d'isoler 123 isolats d'*Aspergillus* toxigènes. Parmi ces souches, 100 % des *Aspergillus carbonarius* et 100 % des *Aspergillus ochraceus* sont producteurs d'OTA, tandis que seuls 18,2 % des isolats d'*Aspergillus niger* en produisent. Dans une étude portant sur 20 échantillons de cacao marchand de diverses origines et stockés en Espagne, les souches ochratoxinogènes isolées sont les *Aspergillus* noirs (3 souches d'*A. carbonarius* et 13 souches d'*A. niger* agg).<sup>[183]</sup> De même, des essais préliminaires ont montré que dans le cacao d'origine camerounaise, seuls les *Aspergillus* noirs de la section Nigri peuvent être isolés.

Au Maroc, aucune étude similaire n'a été effectuée.

### ➤ Les épices

#### ▪ Cumin.

Le cumin est l'échantillon le plus contaminé de tous. Notre étude a révélé la présence de *Aspergillus niger*, *A.fumigatus*, *A. flavus*, *A.nidulans*, *Penicillium sp*, *Beauveria* et *mucorales*.

Le cumin conditionné (sachet) est l'échantillon qui contient le plus de moisissures (*Aspergillus niger*, *A.fumigatus*, *A. flavus*, , *Penicillium sp*, *Beauveria* et *mucorales*), juste après vient le cumin en vrac ( médina ), alors qu'en 2007, les études réalisées par Zineddine et Idrissi, sur le cumin ont détectées l'absence de moisissures au niveau du cumin non conditionné qui a été expliqué par son effet antifongique, les mêmes études ont confirmé la présence des moisissures à ce niveau tout en l'expliquant par la possibilité de l'altération de l'activité antifongique lors du conditionnement ou par la nature différente du cumin utilisé ou par la possibilité d'une post-contamination par les manipulateurs.<sup>[184]</sup>

- *Poivre.*

Nous avons détecté la présence d'*Aspergillus niger* et du *mucorale* que ce soit au niveau du poivre conditionné ou en vrac de grande surface, contrairement au poivre en vrac où on a trouvé, en plus du *mucorale*, du *pénicillium sp.*

- *Piment rouge*

Les 3 types du piment rouge ont connu la présence d'*Aspergillus niger* et du *mucorale*.

- *Gingembre*

Notre étude a noté la présence du *mucorale* dans tous les types du gingembre en plus de l'*Aspergillus niger* dans le gingembre conditionné et dans le gingembre en vrac (médi-na), ce dernier a connu aussi la présence du *pénicillium* contrairement au gingembre en vrac (grande surface) dans lequel on a détecté une nouvelle espèce : *Paecilomyces variotii*.

Cependant, Zineddine et *al.*,(2007) ont noté qu'au Maroc certaines épices commercialisées (le gingembre et le piment) sont frauduleusement additionnées par d'autres produits comme la farine du blé en insistant sur un ajout volontaire d'un colorant artificiel pour procurer la couleur normale de l'épice. Les épices sont dotées de propriétés de préservation et elles sont utilisées également comme antioxydants.

Les épices sont produites par les pays ayant un climat tropical ou subtropical et dont la température, l'humidité et les précipitations sont importantes. L'augmentation des transports internationaux de denrées alimentaires et l'intensification des méthodes culturales induisent à un risque accru de contaminations croisées par les mycotoxines.

Après leur récolte, les épices sont souvent laissées sur le sol dans une aire ambiante pour sécher. Ce qui constitue dans la majorité des cas des conditions idéales pour la croissance des moisissures et la production de mycotoxines.

## **B. Discussion de l'extraction des mycotoxines.**

### **❖ Moisissures isolées et mycotoxines associées.**

Les analyses mycologiques réalisées, ont montré la présence, d'*Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*) et *Penicillium spp.* Ces genres sont décrits dans plusieurs travaux de recherche comme étant parmi les moisissures productrices d'ochratoxine A (OTA) et d'aflatoxines<sup>[185]</sup>

Les principales moisissures des genres *Aspergillus*, *Penicillium sp* sont celles qui produisent les mycotoxines majoritairement rencontrées dans la littérature. Les aflatoxines sont produites par les moisissures des genres *Aspergillus*, principalement *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*.

Aussi la production d'OTA a été attribuée à plusieurs espèces du genre *Aspergillus*.

On peut donc supposer que les souches (*Penicillium spp* et *Aspergillus spp*) isolées dans cette étude pourraient être à l'origine de l'OTA retrouvée dans nos échantillons ayant servi à l'étude toxicologique.

A l'issue des analyses, les résultats de la présence naturelle des Aflatoxines et de l'OTA, ainsi que de la présence des moisissures dans les échantillons analysés sont résumés dans le tableau X.

**Tableau X: Moisissures isolées et mycotoxines associées.**

Echantillons	Moisissures	Mycotoxines	Concentrations (µg/kg)
Café Dubois moulu	<i>A.niger</i> + <i>Mucorale</i>	Non détectée	
Café capsule Espresso	<i>A.niger</i> + <i>Mucorale</i>	Non détectée	
Café capsule Nespresso Sachertorte	<i>Mucorale</i>	Non détectée	
Café capsule Nespresso cosi,	<i>Mucorale</i>	Non détectée	
Café capsule Nespresso Robusta uganda	<i>Mucorale</i>	Non détectée	
Café capsule Nespresso Valluto Decaffeinato	<i>Mucorale</i>	Non détectée	
Café capsule Nespresso Vanilio	<i>A.niger</i> + <i>Mucoral</i> + <i>Penicillium</i>	AFB1	0,004
Thé	<i>Penicillium</i> + <i>A.niger</i> + <i>Cladosporium herbarum</i>	AFB1	3,2
Poudre de chocolat	<i>Cladosporium Herbarum</i> + <i>Mucorale</i>	Non détectée	
Cumin (A)	<i>A.niger</i> + <i>A.nidulans</i> + <i>Mucorale</i>	AFB1	0,07
Cumin (B)	<i>A.niget</i> + <i>Mucorale</i>	AFB1	0,05
Cumin (C)	<i>A.niger</i> + <i>A.fumigatus</i> + <i>A.flavus</i> + <i>Mucorale</i> + <i>Beauveria</i>	AFB1	0,03

<b>Poivre (A)</b>	<i>Penicillium</i> + <i>Mucorale</i>	AFB1	0,16
		+	
		OTA	1,43
<b>Poivre (B)</b>	<i>A.niger</i> + <i>Mucorale</i>	AFB1	0,12
<b>Poivre (C)</b>	<i>A.niger</i> + <i>Mucorale</i>	AFB1	0,14
<b>Piment rouge(A)</b>	<i>A.niger</i> + <i>Mucorale</i>	AFB1	3,11
<b>Piment rouge(B)</b>	<i>A.niger</i> + <i>Mucorale</i>	AFB1	3,25
<b>Piment rouge (C)</b>	<i>A.niger</i> + <i>Mucorale</i>	AFB1	1,28
<b>Gingembre ( A)</b>	<i>A.niger</i> + <i>Mucorale</i> + <i>Penicillium</i>	AFB1	1,31
<b>Gingembre (B)</b>	<i>Mucorale</i> + <i>Paecilomyces variotii</i>	AFB1	0,73
<b>Gingembre (C)</b>	<i>A.niger</i> + <i>Mucorale</i>	AFB1	1,12
<b>Gingembre (Rhizome)</b>	<i>Mucorale</i>	AFB1	1,73
		+	
		OTA	3,1

Comme l'on peut voir, 2 échantillons parmi un total de 22 ont été contaminés par l'OTA. En d'autres termes, seul 9% de l'ensemble des produits alimentaires analysés, sont souillés par la présence de l'OTA avec des teneurs de **1,43µg/Kg** et **3,1 µg/kg** notées respectivement au niveau du poivre (en vrac de la médina) et du rhizome de gingembre. Ces concentrations sont inférieures à la limite maximale de contamination autorisée décrite dans la *catégorie* « **2.2.11 : épices : ...Poivre noir et blanc et gingembre...** » de l'arrêté conjoint du ministre de l'agriculture et de la pêche maritime et du ministre de la santé n°1643-16 du 23 chaabane 1437 (30 mai 2016) fixant les limites maximales de contaminants autorisées dans ou sur les produits primaires et les produits alimentaires et qui est de = **15 µg/kg**.

Concernant l'analyse des aflatoxines (AFB1), les résultats trouvés ont montré une contamination du thé et de tous les types de condiments étudiés et dont les teneurs en AFB1 variaient de **0,004 µg/kg** à **3,25 µg/kg**. Toutes les concentrations détectées sont au dessous de celle qui est fixée dans la **catégorie «2.1.14 : épices : ... La poudre de piment, le poivre noir et blanc, gingembre... »** de l'arrêté conjoint du ministre de l'agriculture et de la pêche maritime et du ministre de la santé n°1643-16 du 23 chaabane 1437 (30 mai 2016) fixant les limites maximales de contaminants autorisées dans ou sur les produits primaires et les produits alimentaires et qui est de **5 µg/Kg**.

Nos résultats (Tableaux IX et X) ont montré que le piment et le gingembre sont plus contaminés en comparaison avec le poivre et le cumin :

- De 1,28 µg/kg à 3,25 µg/kg et de 0,73 µg/kg à 1,73 µg/kg respectivement dans les échantillons de piment et de gingembre analysés,
- De 0,03 µg/kg à 0,07 µg/kg et de 0,12 µg/kg à 0,16 µg/kg respectivement dans les échantillons de cumin et de poivre.

Ces résultats concordent avec ceux rapportés par et par Tantaoui et *al.*,<sup>[187]</sup> et par Zineddine et *al.*, (2007)<sup>[186]</sup>

Dans une étude effectuée par Zineddine et *al.*, (2007) sur l'incidence des aflatoxines dans les échantillons d'épices commercialisées au Maroc, les résultats ont montré une contamination avec des niveaux variant respectivement :

- De 0,5 à 4,70 µg/kg et de 0,03 à 3,5 µg/kg dans les échantillons de piment et de gingembre analysés,
- De 0,01 à 0,08 µg/kg et de 0,03 à 0,3 µg/kg dans les échantillons de cumin et de poivre analysés.<sup>[188]</sup>

La recherche des **aflatoxines** et **d'ochratoxine A** dans nos échantillons s'est révélée **négative**, car elle a permis de détecter de faibles quantités en AFB1 et en OTA.

## IV. CONCLUSION

Tout au long de la chaîne alimentaire, depuis le champ jusqu'à l'assiette du consommateur ou la mangeoire de l'animal, des moisissures sont susceptibles de se développer et de produire des toxines si les conditions écologiques, notamment l'humidité et la température, lui sont favorables. La contamination des aliments ou des graines peut avoir lieu avant ou pendant le stockage. La plupart des moisissures toxiques poussent sur l'aliment, diffusent dans la masse de l'aliment et élaborent des mycotoxines.

Ce travail de recherche est une étude de la contamination de 22 échantillons de différentes denrées alimentaires par les moisissures, et de leurs mycotoxines associées, notamment les aflatoxines (B1/B2/G1/G2) et l'ochratoxine A. Dans nos essais, nous avons utilisé des échantillons commercialisés dans différents points de vente de la ville de Rabat-Maroc, sur lesquels notre étude mycologique a détecté une contamination totale par les moisissures de stockage *Aspergillus*, *Penicillium*. L'étude quantitative des mycotoxines par LCMSMS nous a permis, de mettre en exergue des concentrations conformes aux normes réglementaires fixées par la législation marocaine pour l'OTA et les AFB1.

Cette contamination a lieu du fait de l'absence de contrôles de routine par les autorités compétentes et de l'absence des standards de qualité et de sécurité sanitaire des aliments, de l'absence des bonnes pratiques de production, dans les unités industrielles marocaines et les unités d'importation pour le contrôle de la croissance des moisissures et la production des mycotoxines pendant les périodes de récolte, de distribution et de stockage.

Finalement, un programme de surveillance des mycotoxines doit être une priorité nationale pour assurer la protection des consommateurs généralement inconscients des effets néfastes provoqués à long terme par ces substances.

### **En perspectives il serait intéressant de:**

- Poursuivre les travaux puis étudier la toxicogénèse des souches isolées avec des quantités d'échantillon plus importantes;

- D'élargir la gamme des aliments à analyser (produits à base de maïs, céréales, riz, produits destinés aux enfants et aux bébés, lait en poudre, lait pasteurisé, boissons...) et de rechercher d'autres mycotoxines (celles du *Fusarium* par exemple) pour mettre à jour les connaissances en matière de contamination des aliments marocains par les mycotoxines ;
- Déterminer la dose de prise journalière d'autres aliments consommés ;
- Mettre en place le bilan de connaissances sur la contamination des produits agricoles marocains par les mycotoxines et renforcer le contrôle de ces produits au niveau national. Ceci nous permettrait de rassembler des données pour l'information et la sensibilisation les autorités nationales, ainsi que les producteurs (agriculteurs, industriels...) et les organisations civiles de défense des droits des consommateurs ;
- Les résultats obtenus constitueront une base de données qui servira au lancement d'un projet national pour la réglementation des mycotoxines dans les aliments et la protection du consommateur nigérien et étranger à d'éventuels effets toxiques chroniques associés aux mycotoxines ;
- Étudier le degré d'exposition de la population marocaine aux mycotoxines en analysant ces toxines dans les produits biologiques en particulier dans le sérum et dans le lait maternel d'une population cible (population à fort taux de cancer).

## V. RESUMES

### RESUME

**Titre: Etude de la contamination fongique alimentaire et mycotoxines**

**Auteur: Noufissa Aloui**

**Mots clés: Contamination fongique – Denrées alimentaires – *Aspergillus* - Mycotoxines – LC-MSMS**

Les moisissures sont des contaminants fréquents de nombreux substrats végétaux ainsi que de certains produits d'origine animale. Leur présence conduit souvent à l'altération des produits alimentaires en conduisant à l'accumulation des métabolites secondaires toxiques : les mycotoxines. La toxicité de ces mycotoxines est variable, certaines sont hépatotoxiques (aflatoxines), néphrotoxiques (ochratoxine A), d'autres se révèlent oestrogéniques (zéaralénone), immunotoxiques (patuline, trichothécènes, fumonisines), ou neurotoxiques, liée à une ingestion répétée de faibles doses.

Dans ce travail nous avons étudié la contamination par les mycotoxines de certains aliments commercialisés au Maroc. Pour cela, un total de 22 échantillons : 13 échantillons d'épices, 7 échantillons de café, 1 échantillon de Thé et 1 échantillon de poudre de chocolat, ont été prélevés dans différents points de vente de la ville de Rabat.

L'étude mycologique de ces échantillons a montré un grand nombre de contaminants fongiques, 100% de contamination de nos échantillons (poly ou monocontaminés). Parmi ceux-ci, on dénote la présence des principaux genres incriminés dans la production de mycotoxines : *Aspergillus.spp* (77%), et *Penicillium.spp* (18%), *Mucorale* (90%). Le dosage des mycotoxines est réalisé par LC-MSMS. Les résultats ont montré une variation des teneurs au niveau de l'aflatoxine B1 et de l'ochratoxine A, sans avoir dépassé les limites maximales fixées par la législation marocaine.

La prévention de la contamination des matières premières et du développement des moisissures implique le respect des bonnes pratiques culturales et des conditions de stockage des produits alimentaires. La gestion du risque, du ressort des pouvoirs publics, se traduit par la mise en place d'une législation au niveau national organisant des plans de surveillance de tous les maillons de la chaîne alimentaire .

# SUMMARY

**Title: Study of fungal contamination and mycotoxins**

**Author: Noufissa Aloui**

**Key words: Fungal contamination-Foodstuffs-*Aspergillus*-Mycotoxins-LC-MSMS**

Molds are common contaminants of a wide variety of vegetal and animal derived foods. Their presence often leads the alteration of food products leading to the accumulation of toxic secondary metabolites: Mycotoxins. Their chemical characteristics give them a great stability wich is at the origin of their transfer in the human food chain. The toxicity of mycotoxins varies, ranging from hepatotoxic effects (aflatoxins), nephraotoxic (ochratoxin A) to estrogenic (zearalenone), immunotoxic (patuline, trichothecenes, fumonisins), and neurotoxic effects linked to repeated ingestion of law doses...

In this work, the contamination of Moroccan foodstuffs with mycotoxins was studied. A total of 22 samples: 13 samples of spices, 7 samples of coffee, 1 sample of tea and 1 sample of chocolate, were purchased from different popular markets of Rabat.

Mycological study of 22 of these samples showed a large number of fungal contaminants resulting in a 100% contamination of all our samples Among them, it indicates the presence of the principal genus implicated in the production of mycotoxins: *Aspergillus spp* (77% *Penicillium spp* (18%), and *Mucor* (90%). Detection of mycotoxins is performed by LC-MSMS. The results showed a variation in levels of aflatoxin B1 and ochratoxin A, without exceeding the maximum limits set by Moroccan regulations.

The prevention of contamination of raw materials and the development of molds implies respect for good farming practices and storage conditions for food products. Risk management is the responsibility of governments, which must ensure national legislation that organizes monitoring plans for all parts of the food chain, from production to distribution, as well as food processing and storage.

It is important to continue research activities to improve our knowledge and sensitize the Moroccan population to the toxicity of mycotoxins.

# ملخص

**العنوان:** دراسة تلوث فطري والميكوتوكسين

**من طرف:** نفيصة علوي

**الكلمات الأساسية:** التلوث الفطري-المواد الغذائية-الرشاشيات-الميكوتوكسين - LC-MSMS

تعتبر الفطريات من الملوثات الشائعة ليس فقط للعديد من المنتجات ذات الأصل النباتي , ولكن ذات الأصل الحيواني كذلك , غالبا ما يؤدي تواجدها إلى فساد المنتجات الغذائية , عبر تراكم المستقلبات الثانوية السامة : السموم الفطرية او ما يصطلح عليه ب "الميكوتوكسين".

المميزات الكميائية لهذه الأخيرة تمنحها استقرارا كبيرا يمكنها من التواجد والانتقال إلى السلسلة الغذائية للإنسان. تتميز السموم الفطرية بخاصية سمية مختلفة ,هذا التأثير السلبي المستهدف لعضو دون الأخر حيث نجد ما هو سام للكبد او الكلي او نظام المناعة و البعض منها لديه خاصية استروجينية , و هذا يكون نتيجة استهلاك متكرر لكميات صغيرة منها . هذه الأطروحة تدرس تلوث بعض المنتوجات الغذائية المسوقة بالمغرب بالسموم الفطرية .

تم العمل على 22 عينة أخذت من مناطق من مدينة الرباط :

- 13 عينة من التوابل

- 7 عينات من القهوة

- 1 عينة من الشاي

- 1 عينة من الشوكولاتة

أثبتت الدراسة الفطرية لهذه العينات تلوث عددا كبيرا منها بالفطريات . 100% من التلوث ( أحادي أو متعدد الملوثات ) , من بينها تم رصد تواجد الفطريات الأكثر شيوعا في إنتاج " الميكوتوكسين " , 77% أسبيرجيلوس *Aspergillus* و 18% بينيسيليوم *Penicillium* و 90% ميكورال *Mucorale*. يتم تنفيذ فحص السموم الفطرية

بواسطة LC-MSMS. أظهرت النتائج وجود تباين في مستويات الأفلاتوكسين B1 وأوكراتوكسين A، دون تجاوز الحدود القصوى التي تحددها الأنظمة المغربية.

الوقاية من تلوث المواد الأولية الغذائية وتكاثر الفطريات بها يحتم إحترام الممارسات الجيدة les bonnes pratiques في الزراعة والتخزين.

للسلطات العامة دور هام على الصعيد الوطني في إدارة المخاطر عبر وضع و تفعيل قوانين لمراقبة كل روابط السلسلة الغذائية من الإنتاج الى التوزيع دون نسيان مرحلة تحويل المنتوجات الغذائية و ظروف تخزينها .

أمام هذا الإشكال يتحتم مواصلة البحث لتحسين مستوانا المعرفي بالسميات الفطرية وتحسيس المجتمع بمخاطرها .

## VI. BIBLIOGRAPHIE

- [1] Creppy, E.E., Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology letters*, 2002. 127(1): p. 19-28.
- [2] Oliveri, C. and V. Catara, Mycoflora and Biodiversity of Black Aspergilli in Vineyard Eco-Systems, in *The Dynamical Processes of Biodiversity-Case Studies of Evolution and Spatial Distribution*. 2011, InTech.
- [3] Gimeno, A., Micotoxinas, introducción. XVII Congreso centroamericano y del Caribe de avicultura. 2000.
- [4] Richard, J.L., et al., Mycotoxins: risks in plant, animal and human systems. *CAST Task Force Report*, 2003. 139: p. 101-103.
- [5] Peraica, M., et al., Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the World Health Organization*, 1999. 77(9): p. 754-766.
- [6] Ruppel, P., P. Delfosse, and J.-L. Hornick, La contamination de la filière laitière par les mycotoxines: un risque pour la santé publique en Afrique subsaharienne. *Ann Med Vét*, 2004. 148: p. 141-6.
- [7] Nganou Donkeng, N., Mise au point d'outils moléculaires pour l'identification des flores fongiques ochratoxinogènes: application à la traçabilité du café Camerounais. 2012.
- [8] Tantaoui-Elaraki, A., Production d'aflatoxine par des *Aspergillus* du Maroc. *Homme Terre et Eaux*, 1977. 6(24): p. 79-86.
- [9] Gourama, H., A. Tantaoui-Elaraki, and M. Fares, Toxinogénèse et activité lipolytique de souches d'*Aspergillus flavus* et d'*A. ochraceus* isolées des olives. *Actes Ins Agr Vét*, 1985. 5: p. 51-57.

- [10] Samane, S., A. Tantaoui-Elaraki, and M. Essadaoui, Mycoflora of Moroccan "Greek style" black olives. II-Toxigenesis. *Microbiologie, Aliments, Nutrition*, 1991. 9(4): p. 335-352.
- [11] Zinedine, A., et al., Ochratoxin a, determination in dried fruits and black olives from Morocco. *Alimentaria*, 2004. 41(359): p. 73-76.
- [12] Zinedine, A., et al., Presence of aflatoxin M1 in pasteurized milk from Morocco. *International Journal of Food Microbiology*, 2007. 114(1): p. 25-29.
- [13] Pierre Galtier, S.D., Françoise Janin, Bruno Le Bizec et Al., Rapport synthétique de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans la chaîne alimentaire humaine et animale. AFSSA, Décembre 2006: p. 10.
- [14] BLANC, M., Nouvelles exigences en matière de sécurité sanitaire dans le commerce international des produits agricoles et agroalimentaires: incidence pour les pays d'Afrique exportateurs de produits oléagineux. *Ol. Corps Gras Lipides*, 2001. 8: p. 246-250.
- [15] santé, A.f.d.s.s.d.p.d., Rapport d'activité 2002-2003-Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé: Recherche et appui scientifique, évaluation des risques nutritionnels et sanitaires, médicament vétérinaire. 2003.
- [16] Portelli, C., Mycotoxines. *BULLETIN VETERINAIRE BIMESTRIEL-SOCIETE VETERINAIRE PRATIQUE DE FRANCE*, 2005. 89(1): p. 47.
- [17] Scott, P., Effects of food processing on mycotoxins. *Journal of Food Protection*, 1984. 47(6): p. 489-499.
- [18] Pearson, T.A., et al., AHA guidelines for primary prevention of cardiovascular disease and stroke: 2002 update. *Circulation*, 2002. 106(3): p. 388-391.

- [19] Hankey, G.J. and C.P. Warlow, Treatment and secondary prevention of stroke: evidence, costs, and effects on individuals and populations. *The Lancet*, 1999. 354(9188): p. 1457-1463.
- [20] Lowe, D.P. and E.K. Arendt, The use and effects of lactic acid bacteria in malting and brewing with their relationships to antifungal activity, mycotoxins and gushing: a review. *Journal of the Institute of Brewing*, 2004. 110(3): p. 163-180.
- [21] Suárez-Quiroz, M., et al., Study of ochratoxin A-producing strains in coffee processing. *International journal of food science & technology*, 2004. 39(5): p. 501-507.
- [22] Bessy, C., et al., ALIMENTATION, NUTRITION ET AGRICULTURE ALIMENTACIÓN, NUTRICIÓN Y AGRICULTURA.
- [23] Miraglia, M., et al., Italian National Institute of Health, Rome, Italy. *Handbook of Food Analysis: Residues and other food component analysis*, 2004. 138: p. 879.
- [24] Samson, R. Identification of food-borne *Penicillium*, *Aspergillus* and *Fusarium* species. in *ACIAR proceedings*. 1991.
- [25] Téren, J., et al., Immunochemical detection of ochratoxin A in black *Aspergillus* strains. *Mycopathologia*, 1996. 134(3): p. 171-176.
- [26] Pitt, J.I. and A.D. Hocking, *Fungi and food spoilage*. Vol. 519. 2009: Springer.
- [27] Le Bars, J., *Toxinogenese en fonction des conditions ecologiques du systeme grain/microorganismes. Conservation et stockage des grains et graines et produits derives: cereales, oleagineux, proteagineux, aliments pour animaux/coordonnateur*, JL Multon; preface, E. David, 1982.
- [28] Kokkonen, M., M. Jestoi, and A. Rizzo, The effect of substrate on mycotoxin production of selected *Penicillium* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 2005. 99(2): p. 207-214.

- [29] Guerre, P., et al., Excrétion lactée des mycotoxines: quels risques pour le consommateur. *Rev. Med. Vet*, 2000. 151: p. 7-22.
- [30] Kaniou-Grigoriadou, I., et al., Determination of aflatoxin M 1 in ewe's milk samples and the produced curd and Feta cheese. *Food control*, 2005. 16(3): p. 257-261.
- [31] Lopez, C., et al., Presence of aflatoxin M1 in milk for human consumption in Argentina. *Food control*, 2003. 14(1): p. 31-34.
- [32] Pierre Galtier, S.D., Françoise Janin, Bruno Le Bizec et Al., , Rapport synthétique de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans la chaîne alimentaire humaine et animale. AFSSA,, Décembre 2006: p. P11.
- [33] Kurtzman, C., B. Horn, and C. Hesseltine, *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamaraii*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1987. 53(3): p. 147-158.
- [34] Yiannikouris, A. and J. Jouany, Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal. *Productions Animales* 1 (15), 3-16.(2002), 2002.
- [35] McKenzie, K., et al., Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. *Food and Chemical Toxicology*, 1997. 35(8): p. 807-820.
- [36] Coulombe, R. and R. Sharma, Clearance and excretion of intratracheally and orally administered aflatoxin B1 in the rat. *Food and chemical toxicology*, 1985. 23(9): p. 827-830.
- [37] Eaton, D.L. and J.D. Groopman, *The toxicology of aflatoxins: human health, veterinary, and agricultural significance*. 2013: Elsevier.

- [38] Galtier, P., Biological fate of mycotoxins in animals. *Revue de Medecine Veterinaire (France)*, 1998.
- [39] Gallagher, E.P., et al., The Kinetics of Aflatoxin B1 Oxidation by Human cDNA-Expressed and Human Liver Microsomal Cytochromes P450 1A2 and 3A4. *Toxicology and applied pharmacology*, 1996. 141(2): p. 595-606.
- [40] SABRAN, M.R.B., AFLATOXIN BIOMARKERS IN HUMAN BIOLOGICAL SAMPLES AND THEIR POTENTIAL REDUCTION BY PROBIOTIC *Lactobacillus casei* SHIROTA STRAIN.
- [41] GALTIER, P. Toxic effects of mycotoxins: importance of biotransformation systems. 2003. NOTTINGHAM UNIVERSITY PRESS (éd.): Proceedings of Alltech's 19th international symposium, TP Lyons and KA Jacques ed, Nottingham.
- [42] Massey, T.E., et al., Biochemical and molecular aspects of mammalian susceptibility to aflatoxin B1 carcinogenicity. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1995. 208(3): p. 213-227.
- [43] Meissonnier, G., I. Oswald, and P. Galtier, Aflatoxicoses chez le porc--Etude bibliographique de donnees cliniques et experimentales. *Revue de médecine vétérinaire*, 2005. 156(12): p. 591-605.
- [44] Bammler, T.K., D.H. Slone, and D.L. Eaton, Effects of dietary oltipraz and ethoxyquin on aflatoxin B1 biotransformation in non-human primates. *Toxicological Sciences*, 2000. 54(1): p. 30-41.
- [45] Kelly, E.J., et al., Expression of human microsomal epoxide hydrolase in *Saccharomyces cerevisiae* reveals a functional role in aflatoxin B1 detoxification. *Toxicological sciences*, 2002. 65(1): p. 35-42.

- [46] Sherif, S.O., E.E. Salama, and M.A. Abdel-Wahhab, Mycotoxins and child health: The need for health risk assessment. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2009. 212(4): p. 347-368.
- [47] Pierre Galtier, S.D., Françoise Janin, Bruno Le Bizec et Al., AFSSA. Rapport synthétique de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans la chaîne alimentaire humaine et animale., Décembre 2006: p. P14.
- [48] Pierre Galtier, S.D., Françoise Janin, Bruno Le Bizec et Al., Rapport synthétique de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans la chaîne alimentaire humaine et animale. . AFSSA, Les aflatoxines, 2006: p. P15.
- [49] Hussein, H.S. and J.M. Brasel, Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 2001. 167(2): p. 101-134.
- [50] Herrman, J. and R. Walker, Risk analysis of mycotoxins by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). *Food Nutrition and Agriculture*, 1999: p. 17-24.
- [51] Chen, S.-Y., et al., Association of aflatoxin B1-albumin adduct levels with hepatitis B surface antigen status among adolescents in Taiwan. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 2001. 10(11): p. 1223-1226.
- [52] Jia-Sheng, W. and J. Groopman, DNA damage by mycotoxins. *J. Mutat. Res*, 1999. 424: p. 167-181.
- [53] Kensler, T.W., et al., Translational strategies for cancer prevention in liver. *Nature Reviews Cancer*, 2003. 3(5): p. 321-329.
- [54] Chih, J.J., et al., Nuclear translocation of aflatoxin B1-protein complex. *Biochemical and biophysical research communications*, 1993. 190(1): p. 186-191.

- [55] Marien, K., et al., Comparative binding and sequence interaction specificities of aflatoxin B1, aflatoxicol, aflatoxin M1, and aflatoxicol M1 with purified DNA. *Journal of Biological Chemistry*, 1987. 262(16): p. 7455-7462.
- [56] Kew, M.C., Synergistic interaction between aflatoxin B1 and hepatitis B virus in hepatocarcinogenesis. *Liver International*, 2003. 23(6): p. 405-409.
- [57] Groopman, J.D. and T.W. Kensler, Role of metabolism and viruses in aflatoxin-induced liver cancer. *Toxicology and applied pharmacology*, 2005. 206(2): p. 131-137.
- [58] Stern, M.C., et al., Hepatitis B, aflatoxin B1, and p53 codon 249 mutation in hepatocellular carcinomas from Guangxi, People's Republic of China, and a meta-analysis of existing studies. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 2001. 10(6): p. 617-625.
- [59] Wild, C.P., et al., Environmental and genetic determinants of aflatoxin-albumin adducts in the Gambia. *International Journal of Cancer*, 2000. 86(1): p. 1-7.
- [60] Williams, J.H., et al., Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *The American journal of clinical nutrition*, 2004. 80(5): p. 1106-1122.
- [61] Bondy, G.S. and J.J. Pestka, Immunomodulation by fungal toxins. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B: Critical Reviews*, 2000. 3(2): p. 109-143.
- [62] Oswald, I.P., et al., Mycotoxin fumonisin B1 increases intestinal colonization by pathogenic *Escherichia coli* in pigs. *Applied and environmental microbiology*, 2003. 69(10): p. 5870-5874.
- [63] Oswald, I., et al., Immunotoxicological risk of mycotoxins for domestic animals. *Food additives and contaminants*, 2005. 22(4): p. 354-360.

- [64] Prandini, A., et al., On the occurrence of aflatoxin M 1 in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology*, 2009. 47(5): p. 984-991.
- [65] Miller, D.M. and D.M. Wilson, *Veterinary Diseases. The toxicology of aflatoxins: human health, veterinary, and agricultural significance*, 1994.
- [66] Pier, A., Major biological consequences of aflatoxicosis in animal production. *Journal of Animal Science*, 1992. 70(12): p. 3964-3967.
- [67] Venturini, M., et al., Effect of aflatoxin B1 on resistance induced by *Bordetella bronchiseptica* vaccine in rabbits. *Veterinary microbiology*, 1990. 25(2-3): p. 209-216.
- [68] Venturini, M., et al., Mycotoxin T-2 and aflatoxin B1 as immunosuppressors in mice chronically infected with *Toxoplasma gondii*. *Journal of comparative pathology*, 1996. 115(3): p. 229-237.
- [69] Levkutová, M., et al., Immune response of *E. cuniculi* infected mice to aflatoxin B1. *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 2003. 25(3): p. 431-439.
- [70] Pfohl-Leskowicz, A., et al., Balkan endemic nephropathy and associated urinary tract tumours: a review on aetiological causes and the potential role of mycotoxins. *Food additives & contaminants*, 2002. 19(3): p. 282-302.
- [71] Varga, J., et al., Ochratoxin production by *Aspergillus* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996. 62(12): p. 4461-4464.
- [72] de la Sante, O.M., *Critères d'Hygiène de l'Environnement-12. Le Bruit*. Geneve: OMS, 1980.
- [73] Smith, J.E., et al., Role of mycotoxins in human and animal nutrition and health. *Natural Toxins*, 1995. 3(4): p. 187-192.

- [74] Curto, R.L., et al., Ochratoxin A occurrence in experimental wines in relationship with different pesticide treatments on grapes. *Food Chemistry*, 2004. 84(1): p. 71-75.
- [75] Pierre Galtier, S.D., Françoise Janin, Bruno Le Bizec et Al., Rapport synthétique de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans la chaîne alimentaire humaine et animale. AFSSA, 2006: p. P23.
- [76] Cole, R.J., M.A. Schweikert, and B.B. Jarvis, Handbook of secondary fungal metabolites, 3-volume set. 2003: Academic Press.
- [77] Abid, S., et al., Ochratoxin A and human chronic nephropathy in Tunisia: is the situation endemic? *Human & experimental toxicology*, 2003. 22(2): p. 77-84.
- [78] AFSSA. (2006). Rapport synthétique de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans la chaîne alimentaire humaine et animale.
- [79] Roth, A., et al., Evidence for an enterohepatic circulation of ochratoxin A in mice. *Toxicology*, 1988. 48(3): p. 293-308.
- [80] Malagutti, L., et al., Effects of Ochratoxin A on heavy pig production. *Animal Research*, 2005. 54(3): p. 179-184.
- [81] Brochard, G. and C. Le Bacle, Mycotoxines en milieu de travail. Origine et Propriétés Toxiques des Principales Mycotoxines. INRS, Documents pour le *Médecin Du Travail*, 2009. 119.
- [82] Kumagai, S. and K. Aibara, Intestinal absorption and secretion of ochratoxin A in the rat. *Toxicology and applied pharmacology*, 1982. 64(1): p. 94-102.

- [83] Studer-Rohr, I., J. Schlatter, and D.R. Dietrich, Kinetic parameters and intraindividual fluctuations of ochratoxin A plasma levels in humans. *Archives of Toxicology*, 2000. 74(9): p. 499-510.
- [84] Xiao, H., et al., Metabolites of ochratoxins in rat urine and in a culture of *Aspergillus ochraceus*. *Applied and environmental microbiology*, 1996. 62(2): p. 648-655.
- [85] Li, S., et al., Pharmacokinetics of ochratoxin A and its metabolites in rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 1997. 145(1): p. 82-90.
- [86] Oster, T., et al., Characterization of pig liver purified cytochrome P-450 isoenzymes for Ochratoxin A metabolism studies. *Toxicology letters*, 1991. 57(2): p. 203-214.
- [87] Hutchison, R., P. Steyn, and D. Thompson, The isolation and structure of 4-hydroxyochratoxin A and 7-carboxy-3, 4-dihydro-8-hydroxy-3-methylisocoumarin from *penicilliumviridicatum*. *Tetrahedron letters*, 1971. 12(43): p. 4033-4036.
- [88] Zepnik, H., et al., Ochratoxin A-induced tumor formation: is there a role of reactive ochratoxin A metabolites? *Toxicological Sciences*, 2001. 59(1): p. 59-67.
- [89] Chu, F.S., I. Noh, and C.C. Chang, Structural requirements for ochratoxin intoxication. *Life sciences*, 1972. 11(10): p. 503-508.
- [90] Knasmuller, S., et al., Structurally related mycotoxins ochratoxin A, ochratoxin B, and citrinin differ in their genotoxic activities and in their mode of action in human-derived liver (HepG2) cells: implications for risk assessment. *Nutrition and cancer*, 2004. 50(2): p. 190-197.
- [91] Xiao, H., et al., Toxicity of ochratoxin A, its opened lactone form and several of its analogs: structure–activity relationships. *Toxicology and applied pharmacology*, 1996. 137(2): p. 182-192.

- [92] Dai, J., et al., Detection and characterization of a glutathione conjugate of ochratoxin A. *Chemical research in toxicology*, 2002. 15(12): p. 1581-1588.
- [93] Ringot, D., et al., Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. *Chemico-biological interactions*, 2006. 159(1): p. 18-46.
- [94] Hallén, I.P., et al., Placental and lactational transfer of ochratoxin A in rats. *Natural toxins*, 1998. 6(1): p. 43-49.
- [95] Skaug, M.A., et al., Presence of ochratoxin A in human milk in relation to dietary intake. *Food Additives & Contaminants*, 2001. 18(4): p. 321-327.
- [96] Hagelberg, S., K. Hult, and R. Fuchs, Toxicokinetics of ochratoxin A in several species and its plasma-binding properties. *Journal of Applied Toxicology*, 1989. 9(2): p. 91-96.
- [97] Studer-Rohr, I., *Ochratoxin A in humans: exposure, kinetics and risk assessment*. 1995, Swiss Federal Institute of Technology Zurich.
- [98] Belmadani, A., et al., Regional selectivity to ochratoxin A, distribution and cytotoxicity in rat brain. *Archives of toxicology*, 1998. 72(10): p. 656-662.
- [99] Zimmerli, B. and R. Dick, Determination of ochratoxin A at the ppt level in human blood, serum, milk and some foodstuffs by high-performance liquid chromatography with enhanced fluorescence detection and immunoaffinity column cleanup: methodology and Swiss data. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 1995. 666(1): p. 85-99.
- [100] Kuiper-Goodman, T. and P. Scott, Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A. *Biomedical and environmental sciences: BES*, 1989. 2(3): p. 179-248.
- [101] Meeting, J.F.W.E.C.o.F.A., *Safety evaluation of certain mycotoxins in food*. 2001: Food & Agriculture Org.

- [102] Pierre Galtier, S.D., Françoise Janin, Bruno Le Bizec et Al., Rapport synthétique de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans la chaîne alimentaire humaine et animale 2006: p. P24.
- [103] Tantaoui-Elaraki, A., et al., Recherche de mycotoxines dans des denrées alimentaires distribuées au Maroc. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 2011. 14(3): p. 11-16.
- [104] Filali, A., et al., Ochratoxin A in beverages from Morocco: a preliminary survey. *Food Additives & Contaminants*, 2001. 18(6): p. 565-568.
- [105] Filali, A., et al., Ochratoxin A in human plasma in Morocco: a preliminary survey. *Human & experimental toxicology*, 2002. 21(5): p. 241-245.
- [106] Creppy, E., I. Baudrimont, and A. Betbeder, Ochratoxins and toxicological consequences [endemic nephropathy in Balkans, genotoxicity, cancerogenicity]. *Cryptogamie Mycologie (France)*, 1995.
- [107] Prior, M., J. O'NEIL, and C. Sisodia, Effects of ochratoxin A on growth response and residues in broilers. *Poultry Science*, 1980. 59(6): p. 1254-1257.
- [108] Ziegler, K., Ochratoxin A from a toxicological perspective. *J. Vet. Pharmacol. Ther*, 2000. 23: p. 91-98.
- [109] Walker, R., Risk assessment of ochratoxin: current views of the European Scientific Committee on Food, the JECFA and the Codex Committee on Food Additives and Contaminants. *Mycotoxins and Food Safety*, 2002: p. 249-255.
- [110] Boorman, G.A., Toxicology and carcinogenesis studies of ochratoxin A in F344/N rats (gavage studies): technical report, in *Toxicology and carcinogenesis studies of ochratoxin A in F344/N rats (gavage studies): technical report*. 1989, National Toxicology Program.

- [111] Mantle, P., E. Kulinskaya, and S. Nestler, Renal tumourigenesis in male rats in response to chronic dietary ochratoxin A. *Food additives and contaminants*, 2005. 22(s1): p. 58-64.
- [112] Elling, F., et al., Ochratoxin A-induced porcine nephropathy: enzyme and ultrastructure changes after short-term exposure. *Toxicol*, 1985. 23(2): p. 247-254.
- [113] Organization, W.H. and I.A.f.R.o. Cancer, Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. *IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*, 1993. 56.
- [114] Castegnaro, M., et al., Sex- and strain-specific induction of renal tumors by ochratoxin A in rats correlates with DNA adduction. *International Journal of Cancer*, 1998. 77(1): p. 70-75.
- [115] Ribelin, W., K. Fukushima, and P. Still, The toxicity of ochratoxin to ruminants. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 1978. 42(2): p. 172.
- [116] Hult, K., et al., Ochratoxin A in blood of slaughter pigs. *Nordisk veterinærmedicin*, 1984. 36(9-10): p. 314-316.
- [117] Elling, F., et al., Spontaneous toxic nephropathy in poultry associated with ochratoxin A. *APMIS*, 1975. 83(6): p. 739-741.
- [118] Krogh, P., et al., Balkan (endemic) nephropathy and foodborn ochratoxin A: preliminary results of a survey of foodstuffs. *APMIS*, 1977. 85(3): p. 238-240.
- [119] Malir, F., et al., Ochratoxin A: 50 years of research. *Toxins*, 2016. 8(7): p. 191.
- [120] Maaroufi, K., et al., Foodstuffs and human blood contamination by the mycotoxin ochratoxin A: correlation with chronic interstitial nephropathy in Tunisia. *Archives of toxicology*, 1995. 69(8): p. 552-558.

- [121] Maaroufi, K., et al., Human nephropathy related to ochratoxin A in Tunisia. *Journal of Toxicology: Toxin Reviews*, 1996. 15(3): p. 223-237.
- [122] O'Brien, E. and D.R. Dietrich, Ochratoxin A: the continuing enigma. *Critical reviews in toxicology*, 2005. 35(1): p. 33-60.
- [123] Mally, A., G. Hard, and W. Dekant, Ochratoxin A as a potential etiologic factor in endemic nephropathy: lessons from toxicity studies in rats. *Food and chemical toxicology*, 2007. 45(11): p. 2254-2260.
- [124] Stefanovic, V., et al., Etiology of Balkan endemic nephropathy and associated urothelial cancer. *American journal of nephrology*, 2006. 26(1): p. 1-11.
- [125] Gareis, M., Fate of ochratoxin A on processing of meat products. *Food additives and Contaminants*, 1996. 13: p. 35-37.
- [126] Hundhausen, C., et al., Effect of vitamin E and polyphenols on ochratoxin A-induced cytotoxicity in liver (HepG2) cells. *Journal of plant physiology*, 2005. 162(7): p. 818-822.
- [127] Gagliano, N., et al., Early cytotoxic effects of ochratoxin A in rat liver: a morphological, biochemical and molecular study. *Toxicology*, 2006. 225(2): p. 214-224.
- [128] Wei, Y.-H., et al., Effect of ochratoxin A on rat liver mitochondrial respiration and oxidative phosphorylation. *Toxicology*, 1985. 36(2-3): p. 119-130.
- [129] Bendele, A.M., et al., Ochratoxin A Carcinogenesis in the (C57BL/6J× C3H) F1 Mouse 2 3. *Journal of the National Cancer Institute*, 1985. 75(4): p. 733-742.
- [130] Wangikar, P., P. Dwivedi, and N. Sinha, Effect in rats of simultaneous prenatal exposure to ochratoxin A and aflatoxin B1. I. Maternal toxicity and fetal malformations. *Birth defects research Part B: Developmental and reproductive toxicology*, 2004. 71(6): p. 343-351.

- [131] Wangikar, P., et al., Teratogenic effects in rabbits of simultaneous exposure to ochratoxin A and aflatoxin B 1 with special reference to microscopic effects. *Toxicology*, 2005. 215(1): p. 37-47.
- [132] Sava, V., et al., Acute neurotoxic effects of the fungal metabolite ochratoxin-A. *Neurotoxicology*, 2006. 27(1): p. 82-92.
- [133] Tahani, N. and A. Elamrani, Utilisation des Produits de boulangerie rassis comme aliments pour animaux: Risques et dangers. *Technologies de Laboratoire*, 2008. 3(10): p. 4.
- [134] Lea, T., K. Steien, and F.C. Størmer, Mechanism of ochratoxin A-induced immunosuppression. *Mycopathologia*, 1989. 107(2): p. 153-159.
- [135] Müller, G., et al., Studies of the influence of ochratoxin A on immune and defence reactions in the mouse model. *Mycoses*, 1995. 38(1-2): p. 85-91.
- [136] Luster, M.I., et al., Selective immunosuppression in mice of natural killer cell activity by ochratoxin A. *Cancer research*, 1987. 47(9): p. 2259-2263.
- [137] Weidenbach, A., et al., Ochratoxin A induced TNF $\alpha$  release from the isolated and blood-free perfused rat liver. *Mycotoxin research*, 2000. 16: p. 189-193.
- [138] Pfohl-Leszkowicz, A., *Mycotoxins in food: evaluation and risk management*. 1999: Technique et Documentation Lavoisier.
- [139] Gilani, S.H., J. Bancroft, and M. Reily, Teratogenicity of ochratoxin A in chick embryos. *Toxicology and applied pharmacology*, 1978. 46(2): p. 543-546.
- [140] Tabuc, C., *Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines*. 2007.

- [141] Pierre Galtier, S.D., Françoise Janin, Bruno Le Bizec et Al., Rapport synthétique de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans la chaîne alimentaire humaine et animale. AFSSA 2006: p. P31.
- [142] Bottalico, A., Fusarium diseases of cereals: species complex and related mycotoxin profiles, in Europe. Journal of plant Pathology, 1998: p. 85-103.
- [143] Chu, F., Mycotoxins—occurrence and toxic effect. Encyclopedia of human nutrition. Academic Press, New York, NY, 1998: p. 858-869.
- [144] pierre Galtier, S.D., Françoise Janin, Bruno Le Bizec et Al., Rapport synthétique de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans la chaîne alimentaire humaine et animale. AFSSA, 2006: p. P33-34.
- [145] Pierre Galtier, S.D., Françoise Janin, Bruno Le Bizec et Al., Rapport synthétique de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans la chaîne alimentaire humaine et animale. AFSSA, 2006: p. P34.
- [146] Gaumy, J., et al., Zearalenone: propriétés et toxicité expérimentale. Revue de médecine vétérinaire, 2001. 152(3): p. 217-234.
- [147] Gaumy, J., et al., Zéaralénone: origine et effets chez les animaux d'élevage. Revue Méd Vét, 2001. 152(2): p. 123-136.
- [148] Vleggaar, R. and P. Steyn, The biosynthesis of some miscellaneous mycotoxins. The Biosynthesis of Mycotoxins (P. Steyn, ed.), 1980: p. 395-422.
- [149] Zinedine, A., et al., Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin. Food and chemical toxicology, 2007. 45(1): p. 1-18.

- [150] Ghedira-Chekir, L., et al., Cytotoxic and genotoxic effects of zearalenone: prevention by vitamin E. *Journal of Toxicology: Toxin Reviews*, 1999. 18(3-4): p. 355-368.
- [151] Pittet, A., Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds: An update review. *Revue de Medecine Veterinaire (France)*, 1998.
- [152] Scott, P., Possibilities of reduction or elimination of mycotoxins present in cereal grains. *Developments in Food Science (Netherlands)*, 1991.
- [153] Haumann BF (1995) Eradicating mycotoxins in foods and feeds. *INFORM*, -.
- [154] Riley, R.T., Mechanistic interactions of mycotoxins: Theoretical considerations. *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety* Marcel Dekker, Inc., New York, 1998: p. 227-253.
- [155] Thuvander, A., et al., Dietary intake of some important mycotoxins by the Swedish population. *Food Additives & Contaminants*, 2001. 18(8): p. 696-706.
- [156] Scott, P.M. and G.A. Lawrence, Analysis of beer for fumonisins. *Journal of Food Protection*, 1995. 58(12): p. 1379-1382.
- [157] Kim, E.-K., et al., Extraction of fumonisins B1 and B2 from white rice flour and their stability in white rice flour, cornstarch, cornmeal, and glucose. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2002. 50(12): p. 3614-3620.
- [158] Cancer, I.A.f.R.o., IARC (1993): Evaluation of carcinogenic risks of chemical to humans. Some naturally-occurring substances: Food items and constituents. Heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. *IARC monographs*: p. 359-362.
- [159] Norred, W.P. and K.A. Voss, Toxicity and role of fumonisins in animal diseases and human esophageal cancer. *Journal of Food Protection*, 1994. 57(6): p. 522-527.

- [160] Chapeland-Leclerc, F., et al., Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicoles). *Revue Francophone des Laboratoires*, 2005. 2005(373): p. 61-66.
- [161] Scott, P., Toxins of *Penicillium* species used in cheese manufacture. *Journal of Food Protection*, 1981. 44(9): p. 702-710.
- [162] Bhatnagar, D., et al., Mycotoxins contaminating cereal grain crops: their occurrence and toxicity. *Applied mycology and biotechnology*, 2002. 2: p. 171-196.
- [163] da Rocha, M.E.B., et al., Mycotoxins and their effects on human and animal health. *Food Control*, 2014. 36(1): p. 159-165.
- [164] Bucheli, T.D., et al., *Fusarium* mycotoxins: overlooked aquatic micropollutants? *Journal of agricultural and food chemistry*, 2008. 56(3): p. 1029-1034.
- [165] Toffa, D.D., Étude de la contamination de certains aliments d'origine végétale de la République du Niger les moisissures toxigènes. 2015.
- [166] Chabasse, D., et al., Moisissures, dermatophytes, levures. Du prélèvement au diagnostic. Ed. bioMérieux, France, 2008.
- [167] Leslie, J.F. and B.A. Summerell, *The Fusarium laboratory manual*. 2008: John Wiley & Sons.
- [168] Cromey, M., R. Parkes, and P. Fraser. *Fusarium levels in grain harvested from New Zealand wheat and barley crops in 2000*. in *PROCEEDINGS OF THE NEW ZEALAND PLANT PROTECTION CONFERENCE*. 2001. New Zealand Plant Protection Society; 1998.
- [169] Devegowda, G., et al., Mycotoxin picture worldwide: novel solutions for their counteraction. *Feed Compounder (United Kingdom)*, 1998.

- [170] Zinedine, A., et al., Limited survey for the occurrence of aflatoxins in cereals and poultry feeds from Rabat, Morocco. *International Journal of Food Microbiology*, 2007. 115(1): p. 124-127.
- [171] Larsen, J.C., Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to ochratoxin A (OTA) as undesirable substance in animal feed: Request No EFSA-Q-2003-039. 2004.
- [172] Zinedine, A., et al., Incidence of ochratoxin A in rice and dried fruits from Rabat and Sale area, Morocco. *Food Additives and Contaminants*, 2007. 24(3): p. 285-291.
- [173] Bartine, H. and A. Tantaoui-Elaraki, Growth and toxigenesis of *Aspergillus flavus* isolates on selected spices. *Journal of environmental pathology, toxicology and oncology: official organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer*, 1997. 16(1): p. 61-65.
- [174] Samson, R.A., et al., New ochratoxin A or sclerotium producing species in *Aspergillus* section *Nigri*. *Stud Mycol*, 2004. 50: p. 45-61.
- [175] Dufresne P., G.G., Identification des champignons d'importance médicale. . Santé publique. Québec: Institut National de Santé Publique,, 2014: p. 59.
- [176] Nielsen, D.S., et al., Yeast populations associated with Ghanaian cocoa fermentations analysed using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). *Yeast*, 2005. 22(4): p. 271-284.
- [177] Taniwaki, M., et al., Growth and mycotoxin production by food spoilage fungi under high carbon dioxide and low oxygen atmospheres. *International journal of food microbiology*, 2009. 132(2-3): p. 100-108.

- [178] Noonim, P., et al., Isolation, identification and toxigenic potential of ochratoxin A-producing *Aspergillus* species from coffee beans grown in two regions of Thailand. *International Journal of Food Microbiology*, 2008. 128(2): p. 197-202.
- [179] Silva, C.F., et al., Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, 2000. 60(2-3): p. 251-260
- [180] Taniwaki, M., et al., The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. *International journal of food microbiology*, 2003. 82(2): p. 173-179.
- [181] Martins, M., H. Martins, and A. Gimeno, Incidence of microflora and of ochratoxin A in green coffee beans (*Coffea arabica*). *Food Additives and Contaminants*, 2003. 20(12): p. 1127-1131.
- [182] Leong, S., et al., Ochratoxin A-producing *Aspergilli* in Vietnamese green coffee beans. *Letters in Applied Microbiology*, 2007. 45(3): p. 301-306.
- [183] Amezcua, S., et al., OTA-producing fungi isolated from stored cocoa beans. *Letters in applied microbiology*, 2008. 47(3): p. 197-201
- [184] Zinedine, A. and L. Idrissi, Présence et réglementation des mycotoxines dans les aliments au Maroc: Situation actuelle et perspectives. 2004, Thèse de doctorat. Université Sidi Mohammed Ben Abdallah. [www.technolabo.ma](http://www.technolabo.ma)
- [185] Iqbal, Z., et al., De novo assembly and genotyping of variants using colored de Bruijn graphs. *Nature genetics*, 2012. 44(2): p. 226.
- [186] Larsen, J.C., Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to ochratoxin A (OTA) as undesirable substance in animal feed: Request No EFSA-Q-2003-039. 2004.

- [187] Bartine, H. and A. Tantaoui-Elaraki, Growth and toxigenesis of *Aspergillus flavus* isolates on selected spices. *Journal of environmental pathology, toxicology and oncology: official organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer*, 1997. 16(1): p. 61-65.
- [188] ABDELLAH ZINEDINE, M.B., *DETERMINATION DES MYCOTOXINES DANS LES ALIMENTS ET ETUDE DE LA REDUCTION DES AFLATOXINES PAR LES BACTERIES LACTIQUES ISOLEES DES FERMENTS PANAIRES TRADITIONNELS*. 2004(*Determination des mycotoxines dans les aliments, Les Aflatoxines dans les épices*): p. P.90-93.

## *Serment de Galien*

*Je jure en présence des maîtres de cette faculté :*

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisée de mes confrères si je manquais à mes engagements.*

جامعة محمد الخامس  
كلية الطب والصيدلة  
- الرباط -

### قسم الصيدلي

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَأَحْسِنِ بِاللَّهِ الْعَظِيمِ

- ◀ أن أراقب الله في مهنتي
- ◀ أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيما لتعاليمهم.
- ◀ أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- ◀ أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبآداب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- ◀ أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- ◀ لأحظى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد"

## دراسة التلوث الفطري والميكوتوكسين

### أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم : .....

من طرفه

**الآنسة: نفيسة علوي**

المزودة في 03 نونبر 1990 بسطات

### لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: التلوث الفطري – المواد الغذائية – الرشاشيات – الميكوتوكسين –  
LC-MSMS.

#### تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: إدريس لحلو أمين

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

مشرف

السيد: بدر الدين لميموني

أستاذ في علم الطفيليات والفطريات

السيد: رشيد الجاودي

أستاذ في علم السموم

أعضاء

السيد: مراد بوشريك

أستاذ في علم الطفيليات والفطريات

السيد: يونس رحالي

أستاذ في الصيدلة الغالبية