

INTRODUCTION GENERALE

Les maladies d'origine alimentaire constituent l'un des problèmes les plus préoccupants à l'échelle mondiale. Parmi les contaminants biologiques, la contamination des produits alimentaires par les mycotoxines a récemment été reconnue par l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S) comme source importante de maladies d'origine alimentaire (O.M.S, 2002). L'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (F.A.O) estime qu'environ un quart des récoltes de la planète est significativement contaminé par les mycotoxines (Yiannikouris et Jouany, 2002).

Les mycotoxines sont des molécules toxiques issues du métabolisme secondaire de certaines espèces de moisissures qui se développent sur un aliment. Si la toxine est en quantité suffisante dans l'aliment, elle peut provoquer une intoxication chez le consommateur. Une intoxication aiguë est la conséquence d'une ingestion massive de la toxine ; elle peut aboutir à la mort après diverses manifestations (nausées, léthargie...). L'intoxication chronique, en revanche, se produit à long terme et se traduit, par exemple pour les aflatoxines, par des infiltrations graisseuses et est à l'origine de cancers.

Un grand nombre d'espèces de moisissures appartenant principalement aux trois genres très communs *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, présents dans l'air ambiant, le sol, sur les cultures (...) sont capables en se développant par exemple sur certains substrats tels que l'arachide, le café, les produits céréaliers, les céréales, le raisin (...) de synthétiser et d'excréter des mycotoxines. Les mycotoxines les plus couramment rencontrées et faisant l'objet d'une surveillance régulière, sont les aflatoxines, les ochratoxines. Les conditions optimales de la toxinogénèse dépendent d'une combinaison des facteurs température et humidité ainsi que de l'oxygénation au niveau du substrat. La plupart des moisissures se développent entre 15 et 30°C.

Le choix s'est porté sur ces mycotoxines en raison de leurs toxicités élevées et de la possibilité de leur accumulation dans les denrées alimentaires. En effet, les *Aspergilli*, souvent retrouvés dans les régions à climat chaud, sont à l'origine de la contamination d'un grand nombre de produits d'origine végétale, notamment les céréales, par les aflatoxines et l'ochratoxine A. Par exemple, le blé contribue à environ 50% à l'exposition de l'homme à l'ochratoxine A (Canadas, 2006).

Très nombreuses publications ont été consacrées à la contamination des céréales par les aflatoxines et l'ochratoxine A (OTA) par le monde. En Algérie, il n'y a pas des travaux suffisants pour déterminer de façon claire l'état sanitaire des aliments, à notre connaissance été

publié jusqu'à présent sur la contamination des céréales et d'autres denrées par les moisissures toxigènes et leurs mycotoxines sauf les travaux de Riba (2008) et Matmoura (2010).

Ce travail, structuré en quatre parties, est présenté ainsi : la première partie est consacrée aux généralités sur les moisissures et les mycotoxines. La deuxième partie nous mettrons les méthodes couramment utilisées pour la détection des mycotoxines. La troisième partie étudie la valorisation des mycotoxines en Algérie et les résultats obtenus et à leur discussion et la quatrième partie sur la lutte contre les mycotoxines dans les aliments et nous terminons par une conclusion et des perspectives.

1. LES MOISSURES

Les moisissures sont des champignons microscopiques ubiquitaires, constituées par des filaments ramifiés, les hyphes, dont l'ensemble est connu sous le nom de mycélium. Les moisissures sont caractérisées par :

- la nature chimique de leur paroi cellulaire riche en chitine.
- la reproduction par spores sexuées ou asexuées.
- la présence de glycogène, comme source de réserve.
- l'absence de la chlorophylle.

Le règne des champignons renfermerait 65000 à 100 000 espèces différentes et les moisissures constituent 20 000 espèces. La plupart des moisissures sont des saprophytes, mais certaines peuvent être photogènes pour les végétaux et les animaux (Riba, 2008).

Certaines sont très utiles à l'homme et présentent des intérêts considérables dans les différents domaines (agriculture, biotechnologie, environnement, santé, etc.). Ainsi, dans les milieux naturels les moisissures contribuent, avec d'autres microorganismes, à la biodégradation et au recyclage des matières organiques, d'autres moisissures sont utilisées dans la fabrication de divers produits (enzymes, antibiotiques, acides...). Parmi les enzymes produites on peut citer les protéases et les pectinases produites par *Aspergillus niger*, les acides organiques comme l'acide citrique et l'acide gluconique synthétisés par des espèces d'*Aspergillus* et *Penicillium*. Enfin, la production des pénicillines par *Penicillium chrysogenum* est très connue.

A côté de ces effets bénéfiques, les moisissures sont capables de provoquer également d'importants dégâts, notamment dans le domaine agroalimentaire et sanitaire. En effet, les moisissures sont impliquées dans la modification de l'aspect, de l'altération des qualités organoleptiques, de la réduction quantitative et qualitative de la valeur alimentaire. Sur le plan sanitaire les moisissures sont la cause de différentes affections de la peau (mycose) et des problèmes d'allergie. En plus, certaines espèces présentent un risque sanitaire beaucoup plus grave puisqu'elles sont capables de produire des mycotoxines dont les effets sur la santé sont nombreux et de gravités avérées.

● Principales moisissures mycotoxinogènes

Les mycotoxines sont produites par 5 genres de champignons : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* et *Alternaria* (Miller et Trenholm, 1994). Plusieurs sortes de mycotoxines sont retrouvées dans les aliments, seules certaines contaminent l'alimentation humaine et sont toxiques pour la santé humaine. Les plus importantes sont : les aflatoxines, les ochratoxines, les trichothécènes, la stérigmatocystine, la zéaralénone, la citrinine, la patuline, l'acide pénicillique, les fumonisines (D'Mello et McDonald, 1997 ; Scudamore et Livesey, 1998).

Les champignons majeurs connus comme précurseurs de l'OTA et de l'AFB1 qui sont impliqués dans la chaîne alimentaire humaine et animale, appartiennent principalement aux genres: *Aspergillus* et *Penicillium* (Lopez De Cerain *et al.*, 2002).

2. LES METABOLITES SECONDAIRES

Le métabolisme primaire consiste à organiser des réactions de dégradations et de synthèse pour fournir à l'organisme l'énergie et les composants de base des principales macromolécules. Le métabolisme secondaire, activé à la fin de la croissance, produit quant à lui des substances n'ayant pas de rôle manifeste ou en tout cas pas connu dans le développement des micro-organismes.

Les métabolites secondaires sont très hétérogènes. En effet ils dépendent de l'espèce; de plus la diversité est encore accentuée chez les micro-organismes par rapport à certains organismes plus complexes.

La régulation de ce métabolisme est très complexe et dépend de la disponibilité du substrat ou du déséquilibre en nutriments. Après la phase active de croissance certains cycles ralentissent et provoquent une accumulation de certaines molécules en amont. Pour éviter toute accumulation néfaste, ces molécules seront utilisées pour la production des métabolites secondaires.

Une courbe de croissance caractéristique est représentée dans la figure 1, l'échelle en abscisse et en ordonnée peut changer selon les espèces mais l'aspect générale de la courbe reste identique. La courbe de croissance se divise en quatre phases distinctes, chacune ayant une pente différente. Ces phases sont : (1) la phase de latence, (2) la phase de croissance, exponentielle, (3) la phase stationnaire et (4) la phase de déclin. L'activité cellulaire au cours de ces différentes phases va être discutée (Jerome *et al.*, 2004).

- **Phase de latence** : est une période d'adaptation ; les cellules ne se divisent pas.
- **Phase exponentielle** : pendant la phase exponentielle de croissance, le temps de génération ou temps de doublement du nombre de cellules est constant.
- **Phase stationnaire** : au cours de la phase stationnaire, le nombre de cellules qui meurent est compensé par le nombre de cellules qui se divisent.
- **Phase de déclin** : lorsque le taux de mortalité est supérieur au taux de reproduction, la population cellulaire est en phase de déclin.

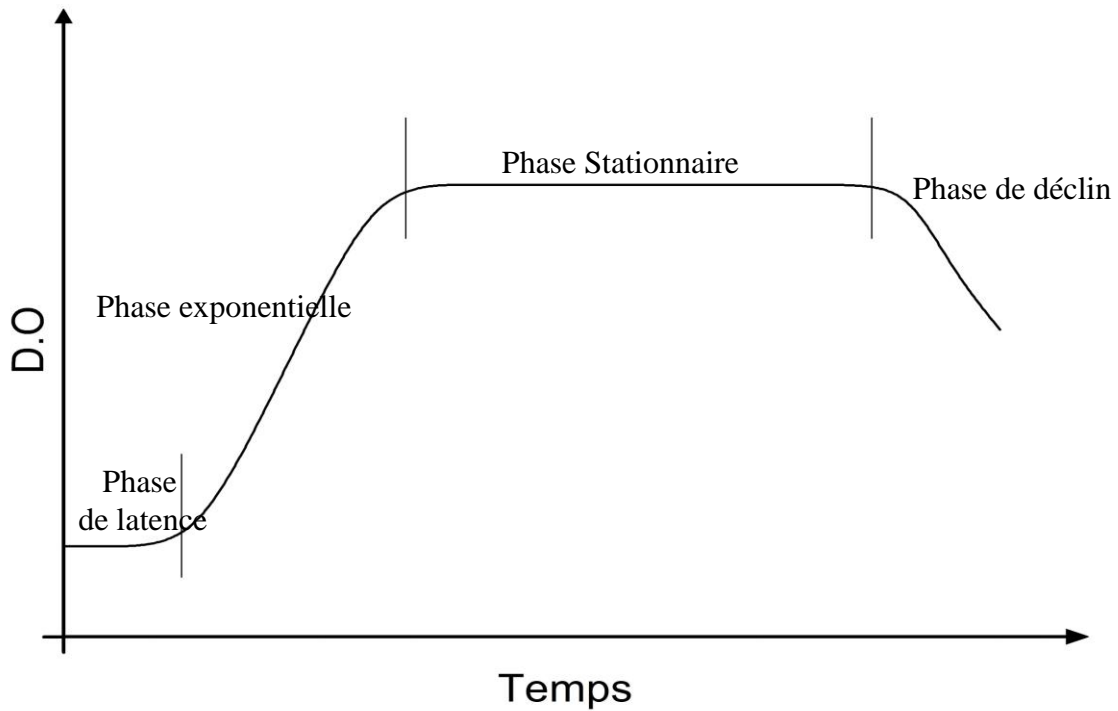


Fig 1. Courbe de croissance montrant les quatre phases de la croissance
(Jerome *et al.*, 2004).

3. LES MYCOTOXINES

Le terme mycotoxine vient du grec "*mycos*" qui signifie champignons et du latin "*toxicum*" qui signifie poison. Il désigne des métabolites secondaires de faible poids moléculaires toxiques, sécrétés par des moisissures. Elles sont produites par 5 genres de champignons : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* et *Alternaria* (Miller et Trenholm, 1994).

3.1. Les mycotoxines en alimentation humaine et animal

Beaucoup d'aliments peuvent être contaminés par les mycotoxines notamment les produits d'origine végétale, comme les céréales et leurs produits dérivés. Les autres produits d'origine végétale susceptibles d'être contaminés par les mycotoxines sont : les fruits secs (les noix, les amandes, les arachides, les pistaches, les raisins...), les légumes secs (graines oléagineuses, et haricotes ...), les épices, le café, le cacao, les fourrages, les jus et les produits de fermentation. Parmi les aliments et les produits d'origine animale, le lait, les produits laitiers, les oeufs, les viandes et tout ce qui en dérive peuvent être souillés par les mycotoxines.

La production des mycotoxines peut survenir au champ, pré et post-récolte, lors du transport, pendant le stockage ou au cours de transformation. L'étalement dans le temps de la consommation et le transport à longue distance des aliments nécessite de plus en plus de stockage (Chapeland-Leclerc *et al.* 2005) d'où le développement des moisissures à la surface et

dans les produits destinés à l'alimentation. Il faut souligner que l'absence de la moisissure dans une denrée ne signifie pas forcément l'absence de la mycotoxine.

L'entrée des mycotoxines dans la chaîne alimentaire de l'homme s'effectue; soit par des denrées consommées directement (arachides, pistaches, amandes, etc.), soit indirectement par des produits dérivés à partir desquels sont élaborés des aliments finis (semoule, farine, biscuits...). En outre, les mycotoxines peuvent se transmettre par des produits d'origine animale, si l'animal a consommé une nourriture contaminée par des mycotoxines (Tableau 1).

Tableau 1. Contamination en moisissures et en mycotoxines de diverses denrées alimentaires (AFSSA, 2006).

Denrées	Espèces toxiques contaminantes	Mycotoxines probables
Blé, Farine, pain, maïs, et chips.	<i>Aspergillus</i> section <i>Flavi</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>Penicillium citrinum</i> , <i>P. citréoviride</i> , <i>P. cyclopium</i> , <i>P. martensii</i> , <i>P. patulum</i> , <i>P. pubertum</i> , et <i>Fusarium moniliforme</i>	AFs, Ochratoxine, Stéigmatocystine, patuline, acide pénicillique, désoxynivalénol, zéaralénone, et fumonisine
Arachide, et noix.	<i>Aspergillus</i> section <i>Flavi</i> , <i>A.ochraceus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>Penicillium citrinum</i> , <i>P.cyclopium</i> , et <i>P. expansum</i> .	AFs, Ochratoxine, Stéigmatocystine, patuline, trichothécènes, et cytochalasines
Tourte à la viande, viande cuite, fromage, cacao, et houblon.	<i>Aspergillus</i> section <i>Flavi</i> , <i>Penicillium Viridicatum</i> , <i>P.roqueforti</i> , <i>P. patulum</i> , et <i>P. commune</i>	AFs, Ochratoxine, Stéigmatocystine, patuline, et acide pénicillique
Viandes, porc salé, et fromage	<i>Aspergillus</i> section <i>Flavi</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>Penicillium viridicatum</i> , et <i>P. cyclopium</i>	AFs, Ochratoxine, Stéigmatocystine, patuline, acide pénicillique, et pénitrem
Poivre noir et rouge, et pâtes	<i>Aspergillus</i> section <i>Flavi</i> , et <i>A. ochraceus</i>	AFs, et Ochratoxine
Fèves, orge, maïs, sorgho, et soja	<i>Aspergillus</i> section <i>Flavi</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>Penicillium cyclopium</i> , <i>P.viridicatum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. islandicum</i> , et <i>P. urticae</i> .	AFs, Ochratoxine, Stéigmatocystine, patuline, acide pénicillique, citrinine, griséofulvine, et alternariol.

Pâtisserie réfrigérée ou congelée.	<i>Aspergillus</i> section <i>Flavi</i> , <i>A.versicolor</i> , <i>Penicillium cyclopium</i> , <i>P.viridicatum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. martensii</i> , <i>P.citreoviride</i> , <i>P. palitans</i> , <i>P. puberulum</i> , <i>P.roquefort</i> , et <i>P. urticae</i>	AFs, Ochratoxine, Stérigmatocystine, patuline, acide pénicillique, citrinine, et penitrem.
Denrée alimentaire (stockage domestique).	<i>Aspergillus</i> section <i>Flavi</i> , <i>Penicillium</i> <i>Fusarium oxysporum</i>	AFs, acide kojique, ochratoxine, pénitrem, patuline, acide pénicillique, et trichothécènes.
Pomme et produits dérivés de pomme.	<i>Penicillium expansum</i> .	Patuline.

3.2. Nature chimique des mycotoxines

Les mycotoxines possèdent des structures chimiques leur conférant une bonne stabilité et de ce fait, les procédés alimentaires usuels (cuisson, lyophilisation, congélation et irradiation) ne peuvent pas les détruire totalement (Park, et al 2002). Quelques moisissures sont capables de produire plusieurs mycotoxines et quelques mycotoxines sont produites par différentes espèces fongiques (Hussein, et Brasel, 2001). Le type et la quantité de mycotoxine dépendent des espèces fongiques qui les produisent (Lacey, 1986), de la souche, et des conditions physicochimiques du milieu.

Selon la nature chimique on peut distinguer trois catégories de mycotoxines : les composés dérivés des acides aminés, les composés dérivés des terpènes et les composés dérivés des polycétoacides.

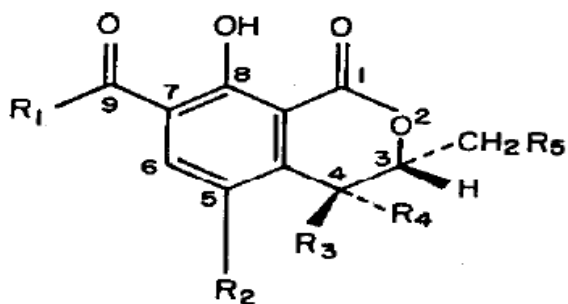


Fig 2. Structure générale des ochratoxines

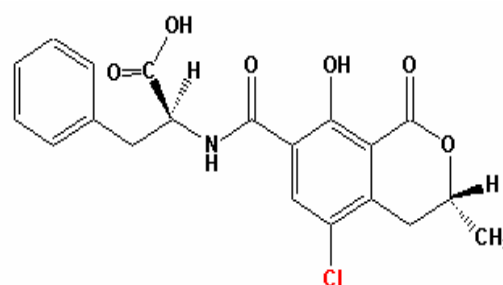


Fig 3. Structure chimique de l'ochratoxine A

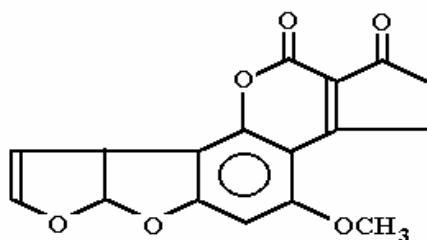


Fig 4. Structure chimique de l'aflatoxine B1.

4. LA TOXINOGENESE

Selon Christensen *et al*, (1977), deux groupes de champignons toxigènes peuvent être distingués du point de vue écologique:

- Les champignons de « champs » qui contaminent les produits agricoles avant ou pendant la récolte, principalement *Fusarium* et *Alternaria*, mais aussi des *Aspergillus* dans le cas des régions à climats chaudes.

- Les champignons de « stockage » (*Aspergillus* et *Penicillium*) qui tendent à contaminer les denrées alimentaires pendant leur stockage. Des champignons du sol ou des débris de plantes peuvent disséminer leurs spores sur la plante ou les grains puis proliférer pendant le stockage si les conditions sont favorables. Toutefois, certaines mycotoxines formées principalement au cours de la conservation, peuvent apparaître parfois avant la récolte. C'est le cas des AFs dans l'arachide, le maïs et le coton.

Parmi les facteurs affectant la production de mycotoxines dans une denrée, il faut distinguer les facteurs intrinsèques liés à la souche fongique et les facteurs extrinsèques constitués par l'ensemble des conditions écologiques (facteurs environnementaux).

4.1. Facteurs intrinsèques

Le potentiel génétique est un facteur important. Au sein du même genre, on peut distinguer des espèces connues pour être toxigènes et d'autres non. Au sein d'une même espèce toxigènes, la capacité de production n'est pas présente chez toutes les souches. Par exemple, toutes les souches d'*Aspergillus parasiticus* produisent les AFs par contre chez *Aspergillus flavus* la production est variable selon les souches. Par ailleurs un champignon peut produire plusieurs mycotoxines à la fois. Par exemple la production d'AFs et de CPA par *A. flavus*. En plus, une même mycotoxine peut être produite par des espèces différentes voire même par deux genres différents (ex. l'ochratoxine A produite par *Aspergillus* et *Penicillium*) (Riba, 2008).

4.2. Facteurs extrinsèques ou facteurs environnementaux

La figure 5, montre les principaux facteurs qui influencent la croissance du champignon et la production de mycotoxines. La température et l'humidité sont les deux facteurs physiques ayant une influence considérable sur la croissance et la production de mycotoxines (Mitchell *et al*, 2004).

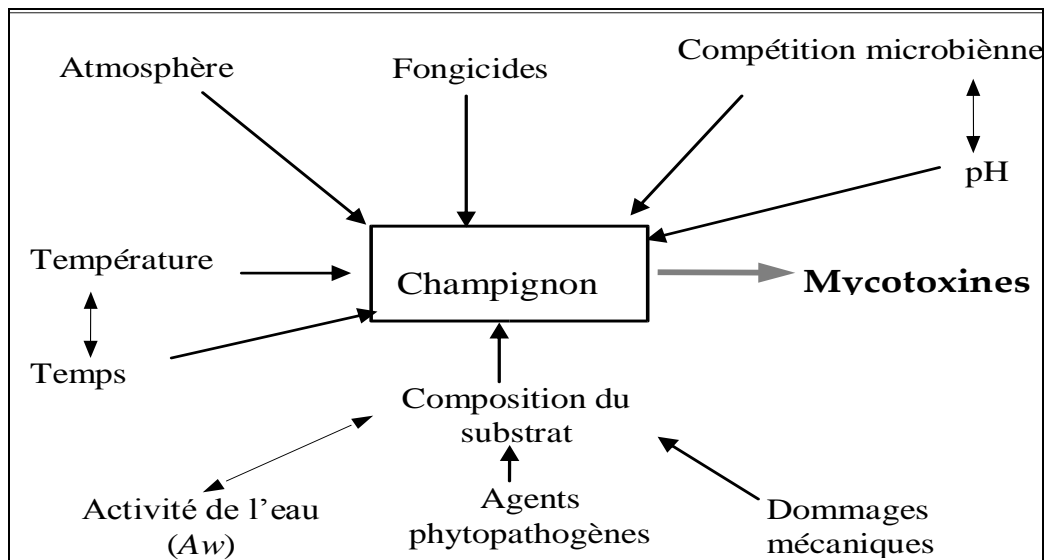


Figure 5. Facteurs environnementaux influençant la production des mycotoxines.

4.2.1. Facteurs physiques

Les facteurs physiques essentiels influençant la production des mycotoxines sont :

4.2.1.1. Température

La température optimale pour l'élaboration de mycotoxines est généralement proche de la température optimale de croissance. (El khoury, 2007). En général, les mycotoxines peuvent être produites sur une large gamme de température. Celle-ci, peut aussi influencer la proportion des toxines produites par une souche susceptible de synthétiser plusieurs molécules. (Pfohl-Leskowicz, 2001).

4.2.1.2. Activité de l'eau (A_w)

La teneur en eau libre dans un substrat appelée activité de l'eau (A_w) est un paramètre dont l'influence est déterminante sur le développement des moisissures et sur la production de mycotoxines. La plupart des moisissures préfèrent une A_w comprise entre 0.85 et 0.99 pour leur développement. L' A_w optimal nécessaire à la toxinogénèse est généralement supérieur à celle qui est nécessaire pour la croissance fongique et la germination des spores. Par exemple, *Penicillium verrucosum* peut se développer à partir d'une A_w de 0,85 (Cairns – Fuller *et al.*, 2005). Certains facteurs, tels que la pression osmotique, le substrat et la température, en réduisant l'humidité relative, peuvent conditionner l' A_w dans le milieu. (El khoury, 2007).

4.2.1.3. Influence du pH

Pour l' A_w aussi, la gamme de pH permettant la toxinogénèse est plus restreinte que celle permettant la croissance fongique. La plupart des moisissures se développent sur une gamme de pH de 2,5 à 9,9 avec un optimum de 4,5 à 6,5 et la production des mycotoxines à lieu aux voisinages des pH optimum de croissance (Weidenbö rner, 1998). La plupart des moisissures se développent sur une gamme de pH de 5,5 à 9 avec une A_w entre 0,85 à 0,98, à une température optimale comprise entre 20°C et 30°C (Reboux, 2006).

4.2.2. Facteurs chimiques

Les facteurs chimiques essentiels qui influencent la production des mycotoxines sont :

4.2.2.1. Nature du substrat

La toxinogénèse dépend beaucoup plus étroitement que de la denrée sur laquelle les moisissures se développent. En effet, les céréales et les oléagineux, plus riches en glucides et en lipides sont généralement plus favorables à la production de mycotoxines que les substrats à forte teneur en protéines (Le Bars, 1998). Tout d'abord par la présence de glucides dans le substrat, puis de lipides et enfin la présence de protides qui ont une moindre influence (Lacey, 1989). Ainsi, l'acide phytique diminue la synthèse d'AFs par *A. parasiticus* et *A.flavus* (Pfohl – Leszkowicz, 2001).

4.2.2.2. Composition gazeuse

Généralement la production des mycotoxines est plus sensible à la variation de la composition de l'air qu' à la croissance fongique. Ainsi, une concentration en oxygène inférieure à 1% et des concentrations élevées de CO₂ empêche l'élaboration de mycotoxines (Cairns–Fuller *et al*, 2005).

4.2.2.3. Traitements agricoles

Plusieurs facteurs additionnels peuvent influencer la production des mycotoxines dans le champ. Il peut s'agir des pratiques agricoles comme le labourage et la rotation de récolte (Lipps et Deep, 1991), l'emploi des fongicides (Moss et Frank, 1985), et les différences géographiques (Langseth *et al*, 1995). En outre la culture biologique peut poser un risque pour la production accrue de mycotoxine comme cela a été proposé par Edwards (2003).

4.2.3. Facteurs biologiques

Les insectes et acariens sont des vecteurs de spores de moisissures introduits à l'intérieur même du grain par des lésions qu'ils créent. La contamination d'arachide, de coton et de maïs par

A. flavus et/ou par les AFs avant la récolte est souvent liée à l'attaque par les insectes. (El khoury, 2007).

La présence de plusieurs espèces fongiques sur la même denrée a généralement un effet dépressif sur la production de toxine. Cela s'explique d'une part par la compétition de substrat et d'autre part, par le fait que certaines souches peuvent dégrader la toxine. Ainsi, la quantité d'aflatoxineB1 produite est réduite quand une souche d'*A. flavus* est introduite dans une culture en même temps qu'une souche d'*A. parasiticus* (Pfohl – Leszkowicz, 2001).

5. IMPACTS SANITAIRE ET ECONOMIQUES

La contamination des aliments de l'homme ou des animaux par des mycotoxines peut provoquer un certain nombre de maladies : des mycoses, des allergies et des mycotoxicoses, un bon nombre de ces mycotoxines ont un effet plus insidieux dans la mesure où elles sont cancérogènes (Le Bars et Le Bars, 1987). Il peut y avoir un effet spécifique toxique sur un organe bien déterminé, cependant la plupart provoquent des lésions graves d'un seul tissu ou de plusieurs tissus. Les organes et tissus cibles sont très divers : foie, reins, peau, système immunitaire, système nerveux, glandes endocrines, etc. D'autres effets tels les gastro-entérites, les hémorragies et les paralysies peuvent également apparaître.

Selon leurs effets toxiques, les mycotoxines sont généralement classées en trois groupes :

- les mycotoxines mutagènes.
- les mycotoxines cancérogènes.
- les mycotoxines tératogènes.

L'impact financier des mycotoxines concerne non seulement les risques pour la santé de l'homme et les animaux domestiques, mais aussi la dégradation de la qualité des produits agricoles commercialisés tant pour le marché intérieur que pour l'exportation.

Les méthodes disponibles pour l'évaluation des risques liés à la présence des mycotoxines sont celles qui permettent le dosage direct des mycotoxines. Les protocoles destinés à la quantification des mycotoxines incluent des étapes d'extraction, de purification et de concentration. L'analyse proprement dite comprend la détection, la quantification et la confirmation. Elle fait intervenir des techniques chromatographiques:

- Chromatographie sur couche mince (CCM).
- Chromatographie liquide à haute performance (HPLC).

D'autres méthodes utilisent par test immuno-enzymatiques :

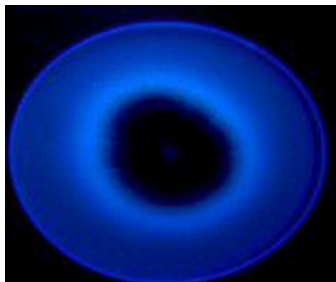
- ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

1. CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM)

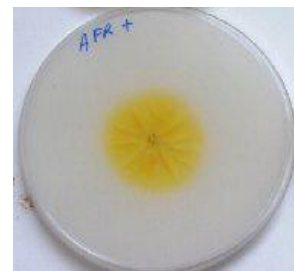
L'utilisation de la CCM permet une détection et une quantification d'OTA, plusieurs protocoles ont ainsi été développés par l'AOAC (1995) (official Method 973,37 et 975,38), notamment pour la recherche de l'OTA. D'après Lin *et al.* (1998), les paramètres de CCM idéaux pour la détection de l'OTA sont les suivants :

Type de couche mince : gel silice (silica gel) ; solvant de séparation : toluène/éthyle /acétate/ 90% d'acide formique (5=4=1=,v/v/v) ; système de détection : une lampe UV (365nm ou 254nm) ; méthode de quantification : densité fluorimétrique à 365nm.

- La fluorométrie : il s'agit de mesurer la fluorescence de la toxine ou de la toxine modifiée avec une étiquette fluorescente. On suppose qu'aucun autre produit n'est fluorescent à la même longueur d'onde. Donc encore, la pré purification par immunoaffinité est suggérée.

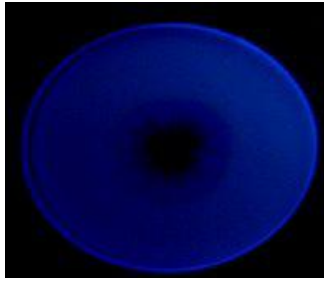


A : Fluorescence bleue sous UV (365 nm)



B : Revers jaune orangé

Isolat producteur d'AFs



C: Absence de fluorescence sous UV (365nm)



D : Revers beige

Isolat non producteur d'AF

Fig 6. Mise en évidence par fluorescence sous lumière U.V. (365 nm) de la production des AFs par *Aspergillus flavus* sur milieu à base d'extrait de noix de coco (CAM).

2. ELISA (TEST IMMUNO -ENZYMATIQUE)

Le test immuno-enzymatique par compétition est basé sur la relation immunologique entre un antigène et un anticorps, voici les différentes étapes indispensables pour une quantification par la méthode ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay).

Séparation de l'échantillon et extraction de la molécule par un solvant approprié (souvent du méthanol) .cette étape est indispensable mais pénalisante en temps car elle nécessite souvent des dilutions pour ramener la concentration en solvant à des teneurs tolérables par les systèmes enzymatiques mis en jeu.

Grâce aux anticorps, les toxines présentes seront fixées à une membrane. Comme les mycotoxines ne sont pas de nature protéique, elles devront être couplées à une protéine pour être antigénique.

En suite, on ajoute un réactif se fixant sur les anticorps restants libres de la membrane. Après une étape de lavage permettant d'éliminer les molécules non fixées, on ajoute un dernier réactif : le substrat. En présence du conjugué, il est transformé en produit coloré.

La coloration signifie que la toxine recherchée dans l'échantillon est non détectée et inversement : l'absence de coloration signifie la détection

Le test ELISA est un test rapide qui demande un délai de 3à24 heures. Mais il ne peut pas détecté toutes les mycotoxines, le risque non négligeable d'avoir des résultats faux positif, il faut donc renforcer l'analyse par méthodes analytiques comme les méthodes séparatives chromatographiques.

3. TECHNIQUE DE SEPARATION CHROMATOGRAPHIQUE EN HPLC

La chromatographe permet de séparer les différents constituants de l'échantillon analysé. L'étude chromatographique s'effectue en plusieurs étapes :

- Broyage et homogénéisation de l'échantillon et extraction des mycotoxines du substrat par un solvant organique approprié à la molécule.

- Purification et concentration de la solution par SPE (Solide Phase Extraction) ou par sélection de la toxine grâce à une colonne « d'immunoaffinité » dont la principale caractéristique est de contenir l'anticorps spécifique de la mycotoxine en suite séparation des molécules recherchées par chromatographie liquide ou gazeuse.

- Détermination quantitative : on considère dans cette étape, deux cas :

Si la mycotoxine n'a pas de spectre caractéristique dans l'UV et/ou n'a pas fluorescente alors il faut effectuer une dérivation (procédé rendant une molécule détectable) la quantification s'effectuer par chromatographie en phase gazeuse (GC) cas des mycotoxines DON, DAS et Nivalénone et en chromatographie liquide à haute pression (HPLC) (Patuline, et citrinine, aflatoxineM, ochratoxineA).

Inversement, si la mycotoxine présente un spectre caractéristique dans l'UV ou est fluorescente dans certaines conditions de pH, de polarité,..., la quantification peut s'effectuer directement en HPLC (Patuline, et citrinine, aflatoxineM, ochratoxineA) (Grosjeau, 2002)

En Algérie, la céréaliculture est pratiquée sur de grandes superficies non irriguées d'où une grande variation en matière de production annuelle estimée entre 1 et 4,5 millions de tonnes. La céréaliculture occupe annuellement une superficie allant de 3 à 3,5 millions d'hectares. Le blé dur accapare 43 % de la surface de production agricole du pays, suivi du blé tendre, qui en occupe 19%. Ces dernières années, il y a eu accroissement de la production de céréales, grâce à un niveau satisfaisant de précipitations et à l'application d'un programme national d'intensification des cultures. A titre d'exemple, la récolte de 2007 a été estimée à 4,3 millions de tonnes (Anonyme, 2008).

L'évaluation du niveau de contamination par les champignons toxigènes est importante, car elle permet de fournir des informations aussi bien sur la qualité des produits alimentaires que d'éventuelle présence de mycotoxines. Beaucoup d'intérêt sont accordés à la détection et à la quantification des espèces d'*Aspergillus section Flavi* responsables de la contamination par les AFs des arachides et d'autres graines et fruits secs (Passone *et al.*, 2010).

I. VALORISATION DES ETUDES PRECEDENTES

Parmi les études réalisées en Algérie celle de M. Riba Ammar (2008) et Mlle. Matmoura Amina (2010).

Riba (2008)

L'objectif de ses travaux était d'analyser la flore fongique de la filière blé, d'étudier dans les conditions *in vitro* le potentiel de production d'aflatoxines et d'ochratoxine A (OTA) des isolats potentiellement toxigènes et d'évaluer les niveaux de contamination du blé et de ses dérivés par ces deux mycotoxines. La démarche générale qui a été adoptée consiste en l'isolement et le dénombrement des moisissures contaminant la filière blé, en utilisant la technique des suspensions-dilutions et ensemencement sur milieu gélosé. Les principaux genres et espèces potentiellement toxigènes sont ensuite identifiés par l'étude des caractères morphologiques et parfois par des techniques moléculaires. La capacité de production *in vitro* des aflatoxines et de l'OTA des isolats appartenant au genre *Aspergillus* a été déterminée par analyses chromatographiques. Afin d'évaluer les risques liés à la présence de ces mycotoxines dans la filière, il a effectué après une extraction par partition, leur dosage par HPLC dans les échantillons représentant les différents maillons de la filière.

Les résultats de l'analyse fongique de 108 échantillons de blé et dérivés collectés à différentes phases (blé des champs, blé stocké dans les silos, semoule, farine et son) ont montré que le nombre de propagules fongique varie entre 144 et 1277 cfu/g. Une grande hétérogénéité est observée dans la densité de la flore fongique au sein des échantillons de même origine et de même catégorie. Les principaux genres fongiques isolés sont *Aspergillus*, *Fusarium*,

Penicillium, *Alternaria* et *Mucor*. Le genre *Aspergillus* est celui qui domine dans la majorité des échantillons analysés. Parmi les espèces d'*Aspergillus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. versicolor* et à un degré moindre, *A. terreus*, sont les plus dominantes.

Tableau 2. Répartition des 150 isolats d'*Aspergillus* section *Flavi* en fonction des quantités d'AFB1 produites sur milieu CAM incubé pendant 5 jours à 28°C (Riba, 2008).

AFB1 ($\mu\text{g/g}$) ^a	Nombre d'isolats	pourcentage (%)
103 – 234,6	23	15%
12,1 – 95,7	37	25%
1,67 – 7,7	8	5%
0,02 – 0,09	40	27%
< à 0,005	42	28%

^a Les quantités produites d'aflatoxine B1 (AFB1) ont été déterminées après analyse par HPLC.

Tableau 3. Détection de l'aflatoxine B1 et de l'OTA dans les échantillons de blé de la récolte 2004 collectés au champ et stockés dans le silo dans les régions de Sétif et de Tizi Ouzou (Riba, 2008).

Origine Source	Région de Sétif		Boumerdès	CCLS de Tizi Ouzou	
	Champ	Silo 1	Champ	Silo 2	Silo 3
Aflatoxine B1					
Nombre d'échantillons	2 ^a	6 ^b	3 ^a	6 ^b	5 ^b
Nombre d'échantillons positifs	1	2	2	5	4
AFB1 ($\mu\text{g/kg}$)	0,87	0,13; 0,44	1,35; 3,41	0,31-4,62	1,69-37,42
Ochratoxine A					
Nombre d'échantillons	2 ^a	6 ^b	3 ^a	6 ^b	5 ^b
Nombre d'échantillons positifs	1	3	2	3	1
OTA ($\mu\text{g/kg}$)	0,76	0,21 – 1,6	0,45; 1,65	1,2–3,91	1,74

^a Chaque échantillon est constitué d'un mélange de 10 échantillons prélevés dans une parcelle d'un hectare selon le plan de prélèvement décrit dans la partie matériel et méthodes.

^b Chaque échantillon représente une cellule de stockage.

L'étude du pouvoir producteur d'aflatoxines a révélé un taux d'isolats aflatoxinogènes de 30%, 31% et de 72% sur milieu à base de noix de coco, par CCM et par HPLC respectivement. Les quantités d'aflatoxine B1 (AFB1) produites sont comprises entre 0,02 et 234,6 µg/g. L'ensemble des résultats relatifs à l'étude des caractères morphologiques et chimiotypiques des isolats d'*Aspergillus* section *Flavi* indique que cette section est dominée par l'espèce *A. flavus*. Les résultats de l'analyse moléculaire ont confirmé l'hypothèse selon laquelle les isolats aflatoxinogènes isolés des échantillons de blé et dérivés ont une même origine et que l'espèce *A. flavus* est la principale source d'aflatoxines.

Les espèces impliquées dans la production d'OTA dans le blé Algérien sont surtout *Aspergillus ochraceus*, *A. alliaceus*, *A. carbonarius*, et à un degré moindre *A. niger*, *A. terreus*, *A. fumigatus*, *A. versicolor* et *Penicillium verrucosum*.

L'analyse par HPLC de l'AFB1 et de l'OTA a montré un taux de contamination de 56,6 et 35,8% respectivement. Les deux mycotoxines ont été détectés à différents maillons de la chaîne.

Son travail est une contribution à une analyse des risques liés à la contamination du blé par les aflatoxines et l'ochratoxine A en Algérie.

Tableau 4. Résultat global du niveau de contamination par l'aflatoxine B1 et l'OTA des échantillons de blé de la récolte 2006 collectés un mois après la moisson, dans les régions de la Mitidja et de Sétif (Riba, 2008).

Région	Mitidja	Sétif	Total
Nombre d'échantillons Analysés	13 ^a	10	23
Aflatoxine B1			
Nombre d'échantillons positifs (%)	8 (61,5%)	6 (60%)	14/23 (60,9%)
Teneur en µg/kg	0,22–13,96	0,21–7,0	0,21– 13,96
Ochratoxine A			
Nombre d'échantillons positifs (%)	6 (46,1%)	1 (10%)	7/23 (30,4%)
Teneur en µg/kg	0,42–21,5	15,35	0,42– 21,5

^a Chaque échantillon est constitué d'un mélange de 3 sous-échantillons prélevés selon le protocole décrit dans la partie matériel et méthodes.

Matmoura (2010)

Dans le cadre de son travail, elle s'est particulièrement intéressée à étudier les espèces aflatoxinogènes et les AFs dans les arachides et les fruits secs commercialisés en Algérie.

Les arachides et les fruits secs sont les produits les plus exposés aux contaminations par les aflatoxines. L'objectif de ce travail est d'étudier les populations d'*Aspergillus* section *Flavi* aflatoxinogènes et d'évaluer le niveau de contamination des aflatoxines dans quelques échantillons d'arachides et de fruits secs (cacahuètes décortiquées, cacahuètes non décortiquées pistaches, noix, amandes, noisettes, noix de cajou, raisins secs, pruneaux, et abricots secs) commercialisés. Un total de 77 échantillons a été collecté au niveau des marchés les plus fréquentés de 7 régions d'Algérie (Alger, Blida, Médéa, Djelfa, Ghardaïa, Guelma et Chleff). La démarche générale qui a été adoptée consiste l'isolement et le dénombrement des moisissures.

Les principaux genres et espèces potentiellement toxigènes sont identifiés morphologiquement et la fréquence du genre *Aspergillus* a été déterminée. Les isolats d'*Aspergillus* section *Flavi* ont été identifiés selon leurs caractères morphologiques et chimiotypiques (production d'aflatoxines, de sclérotés et d'acide cyclopiazonique). Le screening des isolats aflatoxinogènes a été réalisé sur un milieu de culture à base d'extrait de noix coco (CAM) pour 308 isolats. La production est ensuite confirmée par chromatographie sur couche mince (CCM) et par HPLC munie d'une cellule de dérivation « KobraCell ». Le dosage des aflatoxines dans 29 échantillons d'arachides et de fruits secs a également été réalisé.

Les résultats d'analyse fongique de 77 échantillons ont montré que la densité de la flore fongique est comprise entre 43 et 9.9.10⁴ cfu/g. La plus forte densité (9.9.10⁴ cfu/g) a été enregistrée dans les échantillons de pistaches. Les principaux genres fongiques isolés sont *Aspergillus* et *Penicillium*. *Aspergillus* a été isolé dans tous les échantillons avec des taux allant de 17 à 99,8% soit une moyenne de (68,8%). *Aspergillus* section *Flavi* et *Aspergillus* section *Nigri* représentent 30 et 38,8% du genre *Aspergillus*, respectivement.

L'étude du pouvoir producteur d'aflatoxines a révélé un taux d'isolats aflatoxinogènes de 40%. Certains isolats produisent les 4 AFs (AFB1, AFB2, AFG1 et AFG2). Les quantités produites sur milieu CAM varient entre 342,43 µg/g à 1994,63 µg/g de milieu. Un taux de production de CPA de 98,37% a été obtenu. L'ensemble des résultats relatifs à l'étude des caractères morphologiques et chimiotypiques des isolats d'*Aspergillus* section *Flavi* indique que cette section est dominée par l'espèce *A. flavus* (92,85%). Deux isolats d'*A. parasiticus* ont été isolés.

Ils ouvrent la porte à de nombreux autres travaux sur la contamination des denrées alimentaires de large consommation aux aflatoxines et à l'OTA. Au plan préventif, il convient d'émettre un certain nombre de recommandations pour réduire les risques liés à la présence de ces mycotoxines dans l'alimentation.

II. ESSAI DE RECHERCHE DES CHAMPIGNONS AFLATOXINOGENES

1. MATERIEL

Le matériel utilisé au cours de cette étude est :

1.1. Les denrées alimentaires

Les denrées alimentaires ayant fait l'objet d'analyse fongique et mycotoxilogique sont: le café et l'orge commercialisés en Algérie.

1.2. Les milieux de culture

Pour l'isolement et l'identification des *Aspergilli*, et des *penicillia*, les milieux de cultures utilisées sont: DRBC (Dichloran, Rose Bengal, Chloramphénicol), PDA (Potato, Dextrose, Agar) et CAM (Coconut Agar Medium) (Davis et *al.*, 1987) (annexe I).

1.3. Souches de référence

Pour l'étude du pouvoir producteur d'AFs des isolats nous avons utilisé une souche de référence: *Aspergillus flavus* (NRRL 3251) fournie par l'INRA de Toulouse.

1.4. Appareillage

Les appareils utilisés dans cette étude sont les suivants :

Autoclave (Adolf Wolf (SANoclav)), étuve (Memmert), agitateur (MS2 Mini shaker IKA), lampe UV (254 nm; 365 nm), mixeur, microscope optique (motic), pH-mètre (inolab), balance de précision (Scaltec SBC 32, Max=120g, Min=0.01g).

2. METHODES

La démarche adoptée pour réaliser ce travail, consiste à collecter des échantillons de café et d'orge aux niveaux des détaillants des marchés les plus fréquentés. Aussitôt collectés, une analyse fongique est ensuite réalisée par les techniques des suspension-dilutions et isolement sur milieu gélosé (DRBC). Les isolats appartenant à *Aspergillus* section *Flavi* ont ensuite été identifiés en se basant sur les caractères morphologiques, la formation de sclérotés et la production d'AFs.

2.1. Collections des échantillons

Dans cette étude nous avons analysé 02 échantillons de café et d'orge commercialisés en Algérie. Les échantillons ont été collectés aux niveaux des détaillants des marchés les plus fréquentés en Algérie. Les échantillons ont été prélevés aléatoirement durant le mois de février et mars 2010. Environ 30g de chaque échantillon.

2.2. Isolement et identification

2.2.1. Isolement et dénombrement de la flore fongique

Les isolements des moisissures dans les échantillons ont été réalisés selon la technique des suspension-dilutions et ensemencement sur milieu gélosé DRBC dont la composition est donnée en annexe I. Ce milieu ralentit le développement des moisissures envahissant tel que les mucors et les rhizopus, et de réduire la taille de mycélium et a permis d'isoler celles appartenant à d'autres genres *Penicillium* et *Aspergillus*. La présence de chloramphénicol antibiotique bactérien permet d'éviter une contamination bactérienne (Riba, 2008).

Un gramme de chaque échantillon de graines finement broyées sont mis dans des tubes à vise stérile de 25ml contenant 10 ml d'eau stérile et homogénéisé par agitation durant 15 min. Cent microlitres de chaque dilution sont ensemencées sur la surface des boîtes de pétri contenant le milieu DRBC (King *et al.*, 1979). Trois boîtes sont ensemencées pour chaque dilution.

L'incubation a lieu à 28°C pendant 5 à 7 jours à l'obscurité. La numération est effectuée en choisissant les boîtes dont le nombre de colonies est compris entre 10 et 100 environ. Le nombre de moisissures est exprimée en colonies formant unité par gramme d'échantillon (cfu/g). Parmi les champignons en croissance, les moisissures des *Aspergillus* section *Flavi* représentatifs de chaque échantillon sont repiquées visuellement à la surface de la gélose par leur forme et leur couleur caractéristiques dans les boîtes pétri contenant le milieu PDA (Potato, Dextrose, Agar) (Raper et Fennell, 1965) dont la composition est donnée en annexe I. Après incubation de 7 à 10 jours à 28°C.

2.2.2. Identification morphologique des isolats fongiques

L'observation des colonies des champignons qui se sont développés se fait tout d'abord à l'œil nu puis avec le microscope dans le but de déterminer s'il s'agit d'un *Aspergillus*, d'un *Penicillium*, ou d'un autre genre en fonction de l'aspect morphologique macroscopique.

2.3. Etude du pouvoir producteur des mycotoxines

Les mycotoxines comme AFs possèdent une fluorescence propre qui permet de les détecter généralement dans l'U.V. lointain (365 nm). A cette longueur d'onde, elles sont fluorescentes: couleur bleue verte ou bleu mauve pour les AFs.

Le screening des isolats d'*Aspergillus* section *Flavi* producteurs d'AFs est réalisé par détection de la fluorescence à 365 nm sur milieu de culture à base de noix de coco CAM (Coconut Agar Medium), selon la technique décrite par Davis *et al.* (1987) et Fente *et al.* (2001).

Les souches fongiques sont ensemencées par le point central (1 souche par boîte) sur milieu gélosé à base d'extrait de noix de coco (CAM), favorable à la production d'AFs (Fente *et al.*, 2001). La β -cyclodextrine et ses dérivés méthylés ont été utilisés par de nombreux auteurs

(Franco *et al.*, 1998; Chiavaro *et al.*, 2001; Criseo *et al.*, 2001; Fente *et al.*, 2001 et Rojas *et al.*, 2005) pour la détection des souches aflatoxinogènes.

Dans le milieu CAM, les AFs combinées aux matières grasses de la noix de coco, donnent une fluorescence visible sous lumière U.V. (365 nm) surtout sur le revers de la colonie. En effet, après 48 à 72 h d'incubation à 28°C, les isolats producteurs d'AFs développent autour de la colonie une fluorescence visibles sous la lumière U.V. (365 nm) surtout sur le revers de la colonie (Davis *et al.*, 1987).

3. RESULTATS ET DISCUSSION

L'objectif de ce travail est d'étudier les champignons producteurs d'aflatoxines dans le café et l'orge Pour cela, nous avons analysé 02 produits de café et d'orge de la récolte de 2009/2010.

Les résultats de l'analyse fongique ont montré une forte contamination des échantillons par les moisissures. Plusieurs travaux ont également signalé qu'un grand nombre de champignons peuvent être isolés les graines de céréales et d'autres graines (Hedayati *et al.*, 2007). La forte contamination des échantillons de café et d'orge par *Aspergillus* et *penicillium* a été rapportée par plusieurs auteurs (Magan et Aldred, 2005).

Tous les résultats confirment le statut de flore de « stockage » de ces deux genres qui tendent à contaminer les denrées alimentaires pendant leur stockage. Contrairement aux champignons de « champ », *Alternaria*, *Cladosporium* et *Fusarium*, qui exigent une forte humidité. La contamination des denrées alimentaires par les moisissures peut survenir tout au long de la filière: production, stockage, transport, transformation et conditionnement (Doré *et al.*, 2002).

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

En effet, la qualité du grain après récolte est influencé par une large variété de facteurs biotiques (microflore, insectes, acariens et rongeurs) et abiotiques (températures, humidité, activité de l'eau, etc.). Le grain stocké est lui-même considéré comme un écosystème particulier (Magan et Aldred, 2005). En outre, la faible contamination d'orge s'expliquerait probablement par leur conditionnement et leur traitement particulier. Ils subissent un lavage et un séchage avant l'emballage. Ces produits subissent également des traitements chimiques qui consistent un emploi d'additifs protecteurs.

Tableau 5. Distribution de la flore fongique dans les échantillons de café et d'orge commercialisés en à M'sila.

Produits	Isolats	fluorescence	Espèce probable
Café	C1	-	<i>Aspergillus parasiticus</i>
	C2	+	<i>A. carbonarius</i> ou <i>A. niger</i>
	C3	-	<i>A. parasiticus</i>
	C4	+	<i>A. parasiticus</i>
	C5	+	<i>A. parasiticus</i>
	C6	+	<i>A. parasiticus</i>
	C7	+	<i>A. carbonarius</i> ou <i>A. niger</i>
	C8	+	<i>A. parasiticus</i>
	C9	+	<i>A. parasiticus</i>
Orge	O1	-	<i>Rhizopus</i> sp.
	O2	+	<i>A. flavus</i>
	O3	+	<i>Aspergillus</i> sp.
	O4	-	<i>Aspergillus</i> sp.
	O5	+	<i>A. flavus</i>
	O6	-	<i>A. flavus</i>
	O7	+	<i>A. parasiticus</i>
	O8	-	<i>A. parasiticus</i>
	O9	+	<i>A. parasiticus</i>

(+) : fluorescence, (-) : absence.

L'orge est faiblement contaminée par rapport au café. Le peu de moisissures isolées de ces échantillons appartiennent à la plupart du genre *Aspergillus* notamment *Aspergillus* section *Flavi*.

Dans cette étude nous avons révélé une très forte contamination de café par *Aspergillus* section *Flavi*. Les isolats d'*Aspergillus* section *Flavi* peuvent constituer une source d'aflatoxine dans ces denrées. Selon les études menées dans les régions à climat chaud, les espèces de cette section et de la section *Flavi* sont les plus fréquemment isolées dans les graines de céréales et d'autres graines (Riba *et al.*, 2008, 2010). Nos résultats ont également montré que la plupart des échantillons de café et d'orge sont contaminés par les espèces de la section *Flavi*.

Jiménez et Mateo (2001) ont rapporté des fréquences d'isolement d'*Aspergillus* section *Flavi* dans le café et l'orge.

Aspergillus flavus est l'espèce la plus commune, et constitue la principale source d'aflatoxines dans les échantillons de café et d'orge analysés, se produisant dans la plupart des denrées dans les pays tropicaux. *Aspergillus parasiticus* est rarement rencontré dans les autres denrées.

Dans les graines de céréales nous retrouvons pratiquement autant de *Flavi* que des *Nigri*. La prédominance de ces champignons dans ce type de graines a été signalée par Sanchis *et al.* (1988).

Pour lutter contre les moisissures et les mycotoxines, il faut savoir à quel moment elles se développent. Ainsi, il est possible de définir six moments privilégiés au cours de l'élaboration d'un produit : lors de la culture, de la récolte, du stockage, de la transformation, de l'alimentation des animaux et enfin lors de la consommation par l'être humain (Pfohl-Leszkowicz, 1999).

Selon Galvano *et al*, (2001), l'efficacité de chaque approche doit être évaluée selon des critères spécifiques à savoir :

- Inactiver, détruire ou éliminer la toxine dans l'aliment,
- Ne générer aucun résidu toxique dans l'aliment,
- Ne pas altérer les propriétés technologiques et nutritionnelles de l'aliment,
- Etre techniquement et économiquement faisable.

Selon Lopez-Garcia et Park (1999) un système de lutte intégré contre les mycotoxines doit se concevoir à trois niveaux de production :

1. Lutte avant récolte

La prévention au champ consiste l'utilisation raisonnée d'insecticides, dans le but de diminuer les lésions des plantes et réduire l'envahissement par les moisissures ou l'utilisation de fongistatiques inhibant la croissance des moisissures et empêchant la toxinogénèse. La lutte contre les infestations d'insectes peut donc aider à éviter la prolifération des spores et la production ultérieure des mycotoxines. Cependant ces essais sont très difficiles à mettre au point et restent peu concluants.

2. Lutte au moment de la récolte

Pendant cette période, deux facteurs sont à contrôler : le lavage et le séchage. Ces deux pratiques jouent un rôle important dans la prolifération fongique pendant l'entreposage.

3. Lutte et décontamination après récolte

Les procédures appliquées au cours de la période d'entreposage constituent une barrière importante pour éviter l'exposition des consommateurs aux mycotoxines. Les procédés de décontamination doivent être efficaces sans rendre impropres à la consommation les denrées traitées. Ils doivent être simples à mettre en oeuvre et peu coûteux puisque le traitement peut concerner des tonnages importants.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'évaluation du niveau de contamination par les champignons toxigènes est importante, car elle permet de fournir des informations aussi bien sur la qualité des produits alimentaires que d'éventuelle présence de mycotoxines. Beaucoup d'intérêt est accordé à la détection et à la quantification des espèces d'*Aspergillus* section *Flavi* responsables de la contamination par les AFs de café et d'autres graines (Passone *et al.*, 2010). Dans le cadre de ce travail, nous avons évalué particulièrement les études intéressées par les espèces aflatoxinogènes et les AFs dans le café et l'orge commercialisés en Algérie. Les résultats obtenus montrent que le café et l'orge sont fortement contaminés par les moisissures dont les genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont les plus dominants. Ceci confirme le statut de flore de stockage de ces deux genres fongiques. Nous avons également noté la dominance du genre *Aspergillus* dont les espèces appartenant aux sections *Flavi* et *Nigri*, dans la majorité des aliments analysés.

La qualité du grain après récolte est influencé par une large variété de facteurs biotiques (microflore, insectes, acariens et rongeurs) et abiotiques (températures, humidité, activité de l'eau, etc.). La biodisponibilité de l'eau (A_w) et la température représentent les deux paramètres les plus déterminants de l'évolution de la flore de grains secs comme le blé. Cependant, le problème de la conservation se pose en termes très différents selon le niveau technologique du pays.

La mise en évidence du pouvoir producteur d'aflatoxines par détection de la fluorescence sur milieux de culture à base d'extrait de noix de coco, a permis de montrer que cette technique, qui présente l'avantage d'être simple et moins coûteuse est presque aussi performante que la détection par CCM. En outre, grâce à sa plus grande sensibilité l'HPLC, munie d'une cellule de dérivation au brome, a permis de détecter même les isolats très faiblement producteurs d'aflatoxine B1 (AFB1).

En effet, les teneurs en AFB1 peuvent être revues à la hausse si les conditions de la toxigenèse sont favorables (Wilson *et al.* 2002).

Sur le plan de la sécurité sanitaire des aliments, les deux travaux valorisés (Riba, 2008 et Matmoura, 2010) ainsi que nos tests sont une contribution d'analyse des risques liés à la contamination des denrées alimentaires à large consommation en Algérie. Avant toute extrapolation de ces résultats, il faut noter que ceux-ci ne représentent pas une large gamme de situations. Ces travaux sont des études préliminaires ouvrant la porte à de nombreux autres travaux sur la contamination des denrées alimentaires de large consommation aux aflatoxines.

Au plan préventif, il convient d'émettre un certain nombre de recommandations pour réduire les risques liés à la présence de ces mycotoxines dans l'alimentation. Les conditions climatiques

au moment de la récolte, les conditions de stockage des grains dans les silos et la contamination des équipements et des locaux de transformation peuvent constituer des points critiques favorisant le risque de contamination par les aflatoxines.

Les facteurs conduisant à l'imprégnation mycotoxique d'une denrée sont liés non seulement à la souche fongique mais également à l'ensemble des conditions écologiques. Mais il est généralement admis que plus le taux initial de la contamination par des espèces toxigènes est important et plus les risques d'imprégnations toxiques sont élevés.

Les risques liés à la contamination par les champignons toxigènes sera donc plus élevé d'autant plus que dans les pays où le climat est plus propice à la prolifération des moisissures et d'autres organismes vivants tels que les insectes susceptibles de favoriser la production des mycotoxines.

Pour réduire les risques liés à la présence de ces mycotoxines dans l'alimentation il est impératif de veiller au respect de règles d'hygiène telles les conditions d'emballage, d'entreposage et de stockage et multiplier les contrôles microbiologiques et toxicologiques des denrées alimentaires susceptibles d'être contaminés par les mycotoxines. A cet effet, des laboratoires spécialisés en la matière doivent être mis en place sur tout le territoire du pays.