



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE de TLEMCEM  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de  
l'Univers

**Département de biologie**

## MEMOIRE

Présentée par :

El HIMER Nihel  
GHERRAS Souhila

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En

**(Toxicologie industrielle et environnemental)**

### Thème

Etude mycologique et indentification des  
souches fongique toxinogènes isolée  
des amandes et arachides -tlm

Soutenu le 21 juin 2017, devant le jury composé de :

Président	Mme HASSAINE Hafida	Professeur	Université de Tlemcen
Encadreur	Mme SIB Asma	Maitre assistant A	Université de Tlemcen
Examineur	Mr BELYAGOUBI Larbi	Maitre de conférences	Université de Tlemcen

**Année universitaire 2016-2017**

## *Remerciements*

*Au terme de ce travail je remercie:*

*Monsieur LAHFA, Doyen de la Faculté Abou bakre belkaid  
département de biologie de TLM pour sa disponibilité et  
motivation.*

*Madame SIB asma, notre encadreur , maitre assistant A AU  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE SNV TLM . Quoiqu'on dise, les mots ne  
sauraient exprimer ma profonde gratitude pour avoir dirigé  
cette thèse. Ses encouragements et sa patience m'ont beaucoup  
aidé à surmonter toutes les difficultés. On la remercie vivement  
d'avoir suivi et orienter ce travail.*

*Monsieur BELYAGOUBI larbi , Maitre de conférence , pour son  
examinassions de notre mémoire , sa disponibilité, ses conseils et  
ses encouragements.*

*Monsieur BEN AMMAR chAhide , Chef du Département de Biologie  
de pour ses encouragements et ses remarques précieuses. Qu'il  
trouve ici l'expression de mes meilleures considérations.*

*Madame HASSAINE hafida , Professeur à la Faculté des Sciences  
accepter de juger cette thèse et pour sa disponibilité et motivation.*



*Dedicace*

A MES PARENTS

A MON Conjoint

A MES SŒURS ET FRÈRES

MON BINOME *souhila*

A TOUS MES AMIS.

NIHEL

*Dedicace*

A MES PARENTS

A MES SŒURS ET FRÈRES

MON BINOME *nihel*

A TOUS MES AMIS.

SOUHILA



## Résumé

Nos aliments peuvent parfois présenter des risques sanitaires si les conditions de culture, d'élevage de fabrication de commercialisation de conservation sont mauvaises.

Dans ce cadre s'inscrit le problème de nuisances occasionnées par le développement dans les denrées alimentaires.

Les arachide et les amande sont des fruits à coque oléagineuses qui constituent un substrat préférable pour les moisissures qui peuvent provoquer une altération technologique et sanitaire induisant un risque accru de contamination croisée par les mycotoxines, leur danger toxique et cancérogènes pour l'homme et animal

A cet effet, l'objectif de ce travail s'inscrit dans le cadre de problématique de mycotoxine débutant par une analyse mycologique : isolement et purification de la mycoflore dans les arachides et les amandes avec ces différentes catégories d'échantillons commercialisées avec coque décortiquée et sans enveloppe et ce par deux méthodes : la méthode directe d'Ulster et la méthode classique de dilution

Il ressort de ces travaux la dominance des genres *Aspergillus*, *Penicillium* et des mucorales qui témoignent les mauvaises conditions de stockage et commercialisation.

Les souches ainsi identifiées sont 5 *Aspergillus* : *A.parasiticus*, *A.ochraceus*, *A.tamari*, *A.niger*, *A.terreus*, *A.fumigatus*.

Et 4 souches de *Penicilliums* : *P.hispanium*, *P.italicum*, *P.verrucosum*, *P.expansum*.

Les souches *toxinogènes* sont *A.flavus* et *A.parasiticus* sécrétrice d'aflatoxine et *A.ochraceus* sécrétrice d'ochratoxines.

**Mots clé :** arachides, amandes, stockage, moisissures, mycotoxines



## ملخص

في بعض الأحيان يحتوي طعامنا على مخاطر صحية آدا كانت شروط التخزين و الحفظ سيئة و في هذا السياق نسجل مشكلة وفي هذا السياق يناسب مشكلة التلوث الناجم عن التنمية في الغذاء الفول السوداني اللوز هم فاكهة البدن التي تمثل الركيزة المفضلة و المسبب للتغيير التكنولوجي و الصحي الذي يحفز على زيادة خطر انتقال التلوث عن طريق السموم الفطرية ,التي تمثل مخاطر سامة و متسرطنة على صحة الإنسان و الحيوان الهدف من هذا العمل يتم ضمن إطار مشاكل السموم الفطرية المبتدئة و هذا عن طريق تحليل الفطريات : عزل و تنقية الميكوفلور الفطري في الفول السوداني و اللوز و هذا يتم بفضل طريقتين : طريقة الاسترة و طريقة التخفيف الكلاسيكية استخلصنا من هذا العمل هيمنة أنواع mucoral *penicillium* , *aspergillus* , وهذا يؤكد على ظروف التخزين و التسويق السيئة يتم تحديد السلالات الناتجة عن ذلك :  
5 *Aspergillus*: *A.parasiticus* *A.ochraceus* *A.tamaris* *A.niger* *A.terreus* *A. 4 penicilliums* :  
: *A.flavus parasiticus* هي السلالات السامة هي *P.hispanium* *p.italicum* *p.verrucosum* *p.expansum*.  
*sécrétrice d'aflatoxine et A.ochraceus sécrétrice d'ochratoxines*

كلمات البحث: الثمرة قذيفة. العفن. السموم الفطرية: بين الجنسين؛ نوع



## *Abstract*

The present study focused on the study of the mycological quality of samples of peanuts and almonds marketed in the Algerian Republic

50 peanut samples and 50 samples of almonds were taken from different wholesalers in the town of Tlemcen

The mycological study by two methods:

From ulster and the dilution method showed a large number of fungal contaminants.

After microscopic identification, the single spore method was used to disclose the main toxinogenic strain incriminated in the production of mycotoxin.

The identification strains are *A.flavus* A .spp *A.niger* for peanuts and *Alterneria* ,*Penicillium* .spp *A.niger* for almonds.

**Keywords:** fruit a shell; Mold; Mycotoxin: genus; species



## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Arachide hypogea	<b>03</b>
<b>Figure 2 :</b> Prunus dulcis	<b>03</b>
<b>Figure 3:</b> Structure de l'aflatoxine B1 et de la stérigmatocystine	<b>09</b>
<b>Figure 4:</b> Structure chimique de l'ochratoxine A (OTA)	<b>09</b>
<b>Figure 5:</b> Structure de la fumonisine B1.	<b>10</b>
<b>Figure 6 :</b> Structure du nivalénol.	<b>10</b>
<b>Figure 7 :</b> Structure de la patuline.	<b>10</b>
<b>Figure 8:</b> Biosynthèse de quelques mycotoxines.	<b>12</b>
<b>Figure 9:</b> Structure des aflatoxines.	<b>21</b>
<b>Figure 10:</b> Hypothèse de voies de biosynthèse d'aflatoxines.	<b>24</b>
<b>Figure n°11:</b> Résultats du sondage des fruits à coque.	<b>32</b>
<b>Figure n° 12 :</b> Valeurs moyennes des différentes souches fongiques apparus dans les amandes.	<b>38</b>
<b>Figure n°13 :</b> Valeurs moyennes des différentes souches fongiques apparus dans les arachides.	<b>39</b>
<b>Figure n° 14 :</b> Mycoflore totale des arachides.	<b>40</b>
<b>Figure n°15 :</b> Mycoflore totale des amandes.	<b>40</b>
<b>Figure n°16 :</b> Mycoflore spécifique des arachides.	<b>41</b>
<b>Figure n°17 :</b> Mycoflore spécifique des arachides.	<b>41</b>



## Liste des tableaux

<b>Tableau n°1</b> : systématique de l'arachide et amande.	<b>04</b>
<b>Tableau n°2</b> : Composition chimique des arachides et amandes.	<b>04</b>
<b>Tableau n°3</b> : Exemple de produits contaminés par des moisissures toxigènes	<b>08</b>
<b>Tableau n°5</b> : Quelques mycotoxines et leur origine chimique.	<b>12</b>
<b>Tableau n°6</b> : Effets des principales mycotoxines sur l'homme et mécanismes d'action cellulaires et moléculaires identifiés.	<b>18</b>
<b>Tableau n°7</b> : principales caractéristiques des quatre aflatoxine majeurs.	<b>22</b>
<b>Tableau n°8</b> : Limites maximales pour les mycotoxines dans les aliments dans certains pays européens et américains	<b>27</b>



## Liste des abréviations

AFB1 : aflatoxine B1

AFM1 : aflatoxine M1

ar 1 : arachides sans enveloppe

ar 2 : arachides avec l'enveloppe

ar 3 : arachides avec la coque

am 1 : amandes sans enveloppe

am2 : amande avec l'enveloppe

am3 : amande avec la coque

aw : activité d'eau

C° : degré Celsius

CCM : chromatographie sur couche mince

CPG : chromatographie en phase gazeuse

CIRC : centre international de recherche sur le cancer

Eliza : enzyme-linked-immunosorbant -assay

HPLC : chromatographie liquide à haute performance

pH : potentielle d'hydrogène

UV : ultra violet



## Liste des photos

Photo n°1:Aspergillus .niger	45
Photo n°2: Pénicilliums .vrrucosum	45
Photo n°3: Aspergillus .tamarii	45
Photo n°4: Aspergillus .flavus	45
Photo n° 5:Aspergillus .parasiticus	45
Photo n°6: Vu microscopique d'Aspergillus .flavus	45
Photo n°7: Vu microscopique d'Aspergillus. niger	45



# Sommaire

## Introduction

## Partie : bibliographique

<b>Chapitre I : Généralités sur les fruits à coque</b>	<b>05</b>
1. Historique et définition	05
2. Systématique des fruits à coque	06
3. Composition chimique des arachides et amandes	06
<b>Chapitre II : la microflore des arachides et des amandes</b>	<b>07</b>
1. Bactérie	07
2. Levure	07
3. Moisissure	07
4. Généralité sur les moisissures	07
5. Facteurs influençant le développement des moisissures	08
<b>CHAPITRE III : les mycotoxines</b>	<b>10</b>
1. Généralité sur les mycotoxines	10
2. Structure des mycotoxine	11
3. Mycotoxines d'importance majeure	13
4. Biosynthèse de quelques mycotoxines dans les aliments	14
5. La mycotoxinogénèse	15
6. Les facteurs de mycotoxinogénèse	
6.1 Facteurs intrinsèques de la mycotoxinogénèse	15
6.2 Facteurs extrinsèques de la mycotoxinogénèse	16
6. Effet des mycotoxines	18
<b>Chapitre IV : Les aflatoxines</b>	<b>21</b>
1. Qu'est ce qu'une aflatoxine	21
2. structure et propriété des aflatoxines	21
3. Mécanisme de la biosynthèse de l'aflatoxine	24
4. Toxicologie	25
5. Limites maximales pour les mycotoxines dans les aliments dans certains pays européens et les USA	27
6. Détection et dosage	29
7. Procèdes de prévention et de réduction des mycotoxines dans les produits alimentaires	29
<b>Partie II: matériel et méthode</b>	<b>31</b>
Résultat	36

Discussion	46
Conclusion	48
Références bibliographiques	49
Annexes	65

# **Introduction**

Les fruits à coque sont mondialement consommés. Cependant, elles sont intégrées dans notre alimentation car ils sont un véritable atout santé, En plus d'être savoureuses, elles se révèlent être de puissants antioxydants et aideraient également à prévenir les maladies cardiovasculaires et certains cancers.

Malgré leur bénéfice énergiques et leur forte teneur en produits (oleaproteagineux) accompagnée d'autres condition environnemental, ces aliments sont propice a des contaminations par des microorganismes particulièrement les moisissures (**Marie-paule, 2003**).

Ces dernier peuvent se développé sur la plante pendant leur culture ou sur les graine en phase de pré récolte ou en pendant récolte sinon pendant le stockage.

Les moisissures constituent un agent de détérioration très important. Ils sont omniprésents dans la nature et possèdent un arsenal enzymatique très varié, ce qui leur permet de croître sur divers substrats. Les moisissures diminuent la qualité sanitaire (allergie, agents toxiques responsables de graves intoxications humaines et Animales.

Mycotoxines, réduisant la valeur nutritionnelle, modifiant l'aspect organoleptique. Elles sont reconnues pour leurs caractères cancérigènes, immunosuppresseurs, œstrogènes, tératogènes etc. Elles peuvent aussi être à la base d'énormes pertes économiques à l'agriculture et aux industries agroalimentaires. Au vu des gigantesques pertes économiques et des problèmes sanitaires dont les mycotoxines sont la cause ; un grand intérêt leur est actuellement accordé à travers le monde. Ainsi pour garantir la santé des consommateurs, chaque pays se voit dans l'obligation d'adopter une législation spécifique pour les principales mycotoxines dans les aliments susceptibles d'héberger des moisissures toxigènes (**Lubulwa et Davis, 1994 ; Boudra, 2009**).

L'objectif de notre travail est :

- Etude de la mycoflore totale de fruits à coque étudiés
- Identification des genres et des espèces fongiques

## Chapitre I : Généralités sur les fruits à coque

### 1. Historique et définition :

#### 1.1. Arachide (cacahuètes) :

L'arachide (*Arachis hypogaea*), également appelée cacahuète ou cacahouète, pois de terre, pistache de terre et pinotte (de l'anglais *peanut*), est originaire de l'Amérique du Sud précisément sur la côte nord-extrême du Pérou

L'arachide appartient à la famille des *Fabacées*, la tribu des *Aeschynoménées*, la sous-tribu des *Stylosanthinées*, au genre *Arachis*. Le genre *Arachis* comporte soixante neuf espèces dont la presque totalité sont des espèces diploïdes sauvages (Krapovickas et Gregory.1994).

Au plan nutritionnel, l'arachide est une oléo protéagineuse. La graine d'arachide contient 45 à 52% d'huile qui est de meilleures qualités nutritionnelles comparativement aux autres oléagineux, et est riche également en protéines (12 à 36 %). Elle constitue une importante source de protéines faciles à digérer, de sucres, de vitamines E la vitamine A. tableau n°2 (Dwividi, s et al., 2003).



Figure 1 : *Arachis hypogaea*. Gallery., 1983).

#### 1.2. Amande :

L'amande (*Prunus dulcis*) est une graine oléagineuse à la chair pâle, croquante, douce ou amère (pour les amandes sauvages). L'amandier serait originaire des plateau et montagne d'Asie occidentale des régions chaudes et sèches du Proche et du Moyen-Orient amande appartient des rosacées, la tribu des Amygdalées .le genre *Prunus* comporte nombre d'espèce .au plan nutritionnel l'amande est une oleoproteagineuse elle est Oblongue et aplatie, pointue à l'extrémité portant le germe, elle est couverte d'une peau brune légèrement velue. Si cette peau est retirée, l'amande est dite mondée. Leur calibre varie de 34/36 mm à 36/38mm (Markal., 2012).l'amande est très riche en protéines, glucide, et vitamine (voir le tableau n°2).



Figure 2 : *Prunus dulcis*. (Gallery.,1983).

elle contient 50% de lipide avec en majorité des acides gras soit en moyenne 75% d'acides oléique ,18% d'acides linoléique et 7% d'acide palmique.

## 2.Systématique des fruits à coque :

**Tableau n°1** : systématique de l'arachide et l'amande (anonyme., 2000).

<i>Arachide</i>	<i>Amande</i>
<b>Règne</b> :plantea	<b>Règne</b> :plantea
<b>Classe</b> : mangoliopsida	<b>Classe</b> : magnoliopsida
<b>Ordre</b> : fabales	<b>Ordre</b> : rosales
<b>Famille</b> : fabaceae.	<b>Famille</b> : rosaceae.
<b>Genre</b> : arachis.	<b>Genre</b> : prunus.
<b>Nom binomial</b> : <i>Arachis hypogea</i>	<b>Nom binomial</b> : <i>prunus dulcis</i>

## 3.Composition chimique des arachides et des amandes :

**Tableau n°2** : Composition chimique des arachides et amandes selon le codex alimentarius.

Les valeurs	Amande		Arachide (cacahuètes)		
	Quantité	AJR %	Quantité	AJR %	
<b>Valeur énergétique</b>	634kcal	32%	636kcal	32%	
<b>Lipide</b>	53.4g	76.28%	49.6g	71%	
<b>Protéine</b>	25.4g	50.8%	25.9g	52%	
<b>Glucide</b>	1.5g	0.58%	14.8g	5%	
<b>Eau</b>	4.19g		1.01g		
<b>Vitamine</b>	<b>E</b>	14.6mg	121.6%	1.17mg	10%
	<b>C</b>	0.5mg	0.62%	0.0667mg	1%

## **Chapitre II : la microflore des arachides et des amandes**

la microflore des graines des fruit a coque est banale, a tendance xérophile et cosmopolite ; a la récolte la flore des graines comporte de très nombreux genres de bactéries, de moisissures de levure (**Richard-Molard ., 1982**).

### **1.Bactérie :**

Le nombre de bactérie peut éteindre plusieurs millions par gramme sur les grains fraîchement récoltes ; la population bactériennes est essentiellement constitué d'Entérobactéries notamment les coliformes (**Benmansour., 2005**).

### **2.Levures :**

elles dépendent fortement des conditions climatiques, au moment de la récolte ; les genres les plus rencontrés sont :*Sacchomyces*, *Candida* , *Hansenula* , *Kluveromyces* (**Richard Molard., 1982**).

### **3.Moisissures :**

Se sont des champignons caractérisés par un thalle filamenteux , le mycélium qui se bouture aisément par fragmentation ,mais différencie aussi des organes varié de multiplication :spores.les moisissure sont les microorganisme les plus redoutable pour les graines stocké (**Bouix et al.,1993** ) ,( **Bourgeois et al., 1996** ) .

### **4.Généralité sur les moisissures :**

Les moisissures sont des organismes eucaryotes pluricellulaires capables de se développer sur divers substrats. Elles sont hétérotrophes vis-à-vis du carbone et dégradent les matières organiques en les transformant en matières minérales qu'elles assimilent par absorption. Les moisissures ont un rôle capital dans le cycle de la matière.

En effet en dégradant les matières organiques elles participent à la formation de l'humus ; la couche supérieure du sol. Elles sont omniprésentes dans notre environnement (sol, eau, plantes...) et sont véhiculées par l'air, les matières premières, les hommes et les animaux.

Il ya environ 99 000 espèces fongiques ont été décrites mais on estime que leur nombre total pourrait atteindre 5 millions (**Kupferschmidt., 2012**).

Les moisissures sont des champignons filamenteux hétérotrophes qui ont des actions bénéfiques mais aussi néfastes pour l'homme. Ils sont ubiquitaires. Les aliments sont

généralement des milieux très favorables à leur développement. Plusieurs moisissures notamment les genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* sont connues pour être des contaminants des produits agricoles et/ou pour leur capacité à produire des métabolites secondaires toxiques (Cahagnier *et al.*, 1998) ;(Doyle *et al.*, 1998) ;(Meyer *et al.*, 2004).

Les moisissures toxigènes peuvent se développer sous tous les climats, sur tous les supports solides ou liquides dès l'instant où les conditions nécessaires à la croissance décrites précédemment sont réunies (Paterson., 2006).

## **5.Facteurs influençant le développement des moisissures :**

### **5.1 Développement pendant le stockage :**

Le stockage du grain a généralement lieu dans des silos. 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 fruits a coque 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

Bien qu'elles soient peu exigeantes, la réunion de certains facteurs, nutritifs et environnementaux est néanmoins nécessaire au développement des moisissures (Oswald., 2000).

### **5.2. Les éléments nutritifs :**

Ainsi, le Carbone et l'azote sont les éléments nutritifs les plus importants pour les moisissures en sus de quelques ions minéraux (Potassium, Phosphore, Magnésium...) et ce, en très faibles quantités (Najih.2008).

### **5.3. Les facteurs environnementaux :**

Ces substances nutritives sont souvent abondantes mais c'est généralement une bonne combinaison des facteurs environnementaux déterminants que sont l'humidité, l'oxygénation, la température et le pH qui fait défaut entravant ainsi le développement des moisissures (Najih.2008).

#### **5.3.1.Humidité relative :**

Elle est optimale entre 0,78 et 0,84 pour *Aspergillus flavus*. C'est le facteur le plus important et commun à toutes les moisissures (Morceau., 1974).

### **5.3.2. Température :**

les champignons sont classés selon la gamme de température à laquelle ils se développent. On distingue quatre catégories des plus fréquents au moins fréquentes : mésophiles (0 à 50°C), température optimale de 15 à 30°C, thermophile (20 à 50°C), psychrophiles (0 à 20°C). La majorité des champignons sont mésophile (**Roquebert., 1977**).

La majorité des espèces se développent entre 22° et 27°. Pour la plupart des champignons, surtout les moisissures dont mésophiles c'est à dire qu'il se développe autour de 20° à 25°, pour *Aspergillus flavus* l'éventail va de 10 à 45°C (**FAO., 1977**) ; (**DIO., 1978**) ; (**Adary et Med., 1998**)

### **5.3.3. Teneur en O<sub>2</sub>. CO<sub>2</sub> :**

La plupart des moisissures sont aérobies et exigent une bonne oxygénation et un taux de CO<sub>2</sub> inférieur ou égal à 10% cependant, certains tolèrent des quantités relativement faible d'oxygène et peuvent même se développer en anaérobiose .

### **5.3.4. pH du substrat :**

Le développement d'un champignon sur un substrat donné est liée à des propriétés inhérentes au champignon telles que la capacité à produire des métabolites (enzyme, pigments, synthèse de toxine) .La tolérance au pH est assez grande pH = 2 à 7,5(**Meletiadis et al ., 2001**).

### Chapitre III : Les mycotoxines

#### 1. Généralité sur les mycotoxines :

Les termes mycotoxine dérive du grec « mycos », signifiant champignon et du latin toxicum signifiant « poison ». Les mycotoxine sont des molécules capables, a de faible concentration, d'induire un effet toxique (Roboux *et al.*,2006).Ce sont des métabolites secondaires produits a la fin de la phase stationnaires et phase de déclin.

Les mycotoxines peuvent se développer sur la plante au champ ou en cours de stockage et doués de potentialités toxiques à l'égard de l'homme et des animaux. Il existe environ 300 à 400 mycotoxine (Elidemir *et al.* ,1999).Mais seule une trentaine possède de réelles propriétés toxiques pré- occupantes. Ces toxines se retrouvent à l'état de contaminants naturels de nombreuses denrées d'origine végétale : notamment les céréales mais aussi les fruits, noix, amandes, grains, fourrages, ainsi que les aliments manufacturés ou composés destinés à l'alimentation humaine et animale (Pierre., 2005).

Plusieurs genres de moisissures sont connus comme étant producteurs de mycotoxine, parmi eux, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Claviceps*,*Penicillium*.Une même espèce fongique peut produire plusieurs sortes de mycotoxines selon les conditions de culture et une même mycotoxine peut être produite par plusieurs espèces fongique différentes .Quelque exemples de genres de moisissure et de leurs mycotoxines sont regroupés dans le tableau n°3.

**Tableau n°3** : principaux genres de moisissures et leurs mycotoxines associées (Boudih., 2013)

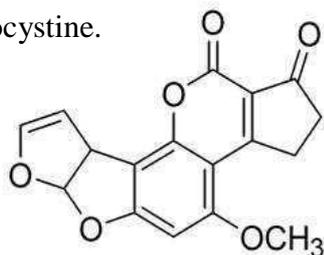
Espèce fongique productrice	Mycotoxine associées
<i>Aspergillus sp.</i>	Gliotoxine , funagilline , acide helvolique , trypacidine , fumitrémorgines , fumiquinazolines , aflatoxines , ochratoxines ,stérigmatocystine .
<i>Alternaria sp.</i>	Alternariol , acide , ténuazonique
<i>Claviceps sp.</i>	Alcaloïde (ergotamine et dérivés)
<i>Fusarium sp.</i>	Trichothécène (déoxynyvalénol , toxine T-2 ,diacétoxyscirpénol , nivalénol ), zéralénone , fumonisines , fusarine ,moniliformine
<i>Penicillium</i>	Ochratoxine A ,pénitrem , acide cyclopiazonique , patuline , citrinine

## 2. Structure des mycotoxines :

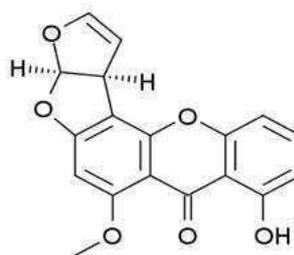
Les mycotoxines sont des métabolites de faible poids moléculaire, généralement inférieur à 500 g/mol qui ont, pour la plupart, une structure hétérocyclique. Nous citons quelques exemples de mycotoxines les plus connues.

- **Les aflatoxines**

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



Structure de l'aflatoxine B1

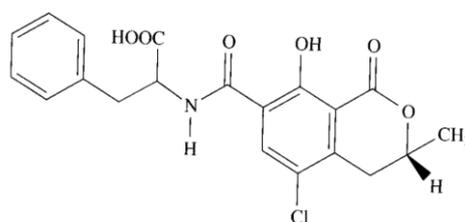


Structure de la stérigmatocystine

**Figure 3:** Structure de l'aflatoxine B1 et de la stérigmatocystine.

- **Les ochratoxines**

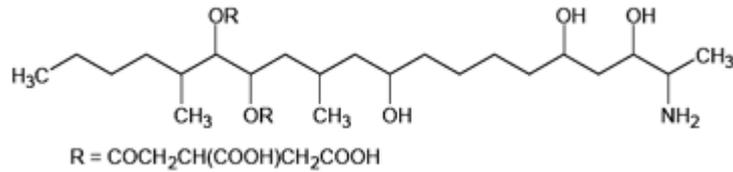
Produites par les genres *Penicillium* et *Aspergillus* comme par exemple *Penicillium viridicatum*, *P. verrucosum*, *A. ochraceus*, *A. niger*. Ce dernier produit l'ochratoxine A à une température optimale entre 20 et 25°C (**Esteban et al., 2004**). Les ochratoxines résultent de la condensation d'un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



**Figure 4:** Structure chimique de l'ochratoxine A (OTA)

- **Les fumonisines**

Produites par le genre *Fusarium*, il s'agit de chaînes d'hydroxyles de carbone à la différence des aflatoxines ou des ochratoxines. Les fumonisines sont solubles dans l'eau.

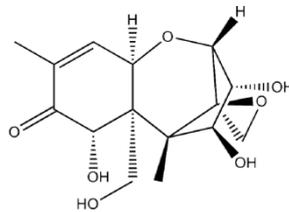


**Figure 5:** Structure de la fumonisine B1.

- **Les trichothécènes**

Elles sont produites par le genre *Fusarium*. C'est le cas de *Fusarium sporotrichioides*

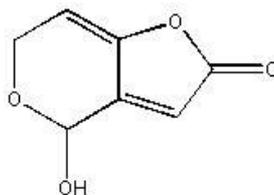
Qui produit la toxine T2, le nivalénol, le déoxynivalénol sur maïs (**Molto et al., 1997**).



**Figure 6 :** Structure du nivalénol.

- **La patuline**

Cette mycotoxine est produite par plusieurs *Penicillium* comme par exemple *P. expansum* qui produit la patuline entre 0 et 30°C (**Sommer et al., 1974**).



**Figure 7 :** Structure de la patuline.

### 3. Mycotoxines d'importance majeure:

Tableau n°4 : mycotoxine majeur (FAO., 1992).

Types de moisissures	Mycotoxines
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxines B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub>
<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxines B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub>
<i>Fusarium sporotrichiodes</i>	Toxine T2
<i>Fusarium graminearum</i>	Déoxynivalénol, zéaralénone
<i>Fusarium moniliforme</i>	Fumonisine B <sub>1</sub>
<i>Penicillium verrucosum</i>	Ochratoxine A
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Ochratoxine A
<i>Penicillium expansum</i>	Patuline

### 4. Les voies de la biosynthèse des mycotoxine :

Les mycotoxines ne constituent pas une classe chimique à part. Elles ont trois origines chimiques différentes : les acides aminés, les polycétoacides et les terpènes. Le tableau n°5 indique quelques exemples de mycotoxines et leur origine chimique.

Tableau n°5 : Quelques mycotoxines et leur origine chimique.

Mycotoxines dérivées des acides aminés	Mycotoxines dérivées des acides Polycetoacide	Mycotoxines dérivées des terpènes
Alcaloïdes de l'ergot	Aflatoxines	Toxine T-2
Gliotoxine	Citrinine	Verrucarrine
Roquefortine	Stérigmatocystine	Déoxynivalénol
Sporidesmine	Zéaralénone	
Ochratoxines		

La diversité de structure d'une mycotoxine à une autre résulte de la variabilité des voies de biosynthèse dont les réactions sont catalysées par différentes enzymes. Les différentes voies de synthèse des mycotoxines dérivent du coenzyme A (CoA). Celui-ci est ensuite acétylé en un polycétide ou polycétoacide via une polycétide synthase (PKS), pour conduire à la synthèse des mycotoxines dérivées de polycétoacides (Figure 8).

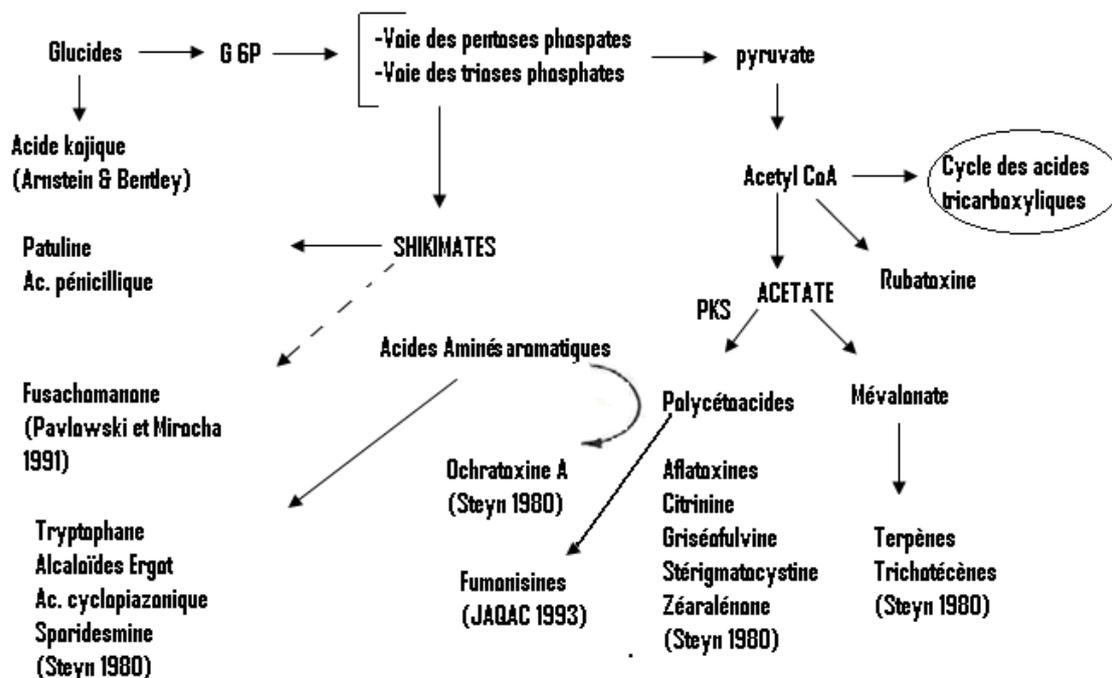


Figure 8: Biosynthèse de quelques mycotoxines (Tabuc., 2007).

## 5. La mycotoxinogénèse :

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

La production des mycotoxines est directement liée à la croissance fongique. Par conséquent, les facteurs capables d'influencer la croissance fongique vont aussi jouer un rôle sur la toxinogénèse.

D'une manière générale, les conditions environnementales nécessaires à la production de mycotoxines sont plus étroites que celles permettant la croissance fongique

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

## 6. Les facteurs de mycotoxinogénèse :

### 6.1. Facteurs intrinsèques de la mycotoxinogénèse :

Toutefois, il n'existe pas de relation directe entre espèce fongique et mycotoxine. En effet, une même molécule peut-être produite par plusieurs espèces fongiques appartenant à des genres différents. Par exemple, l'*ochratoxine A (OTA)* est produite par *Penicillium nordicum*, *P. verrucosum* (Olsen *et al.*, 2003), *Aspergillus ochraceus* (Van der Merwe *et al.*, 1965), *Aspergillus niger* (Abarca *et al.*, 1994) et *Aspergillus carbonarius* (Horie., 1995). Parmi les espèces réputées toxinogènes, toutes les souches n'ont pas forcément la capacité à produire la (les) mycotoxine(s), c'est-à-dire que certaines souches sont fortement productrices de toxines alors que d'autres le sont mais à des degrés moindre ou bien non toxinogènes (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz., 2002).

De même, une espèce peut élaborer plusieurs mycotoxines comme par exemple *Aspergillus flavus* qui peut produire entre autre les aflatoxines, l'acide cyclopiazonique et l'aspertoxine. Cependant, certaines mycotoxines sont étroitement liées à certaines espèces

fongiques : aflatoxines (*A. flavus* et *A. parasiticus*), sporidesmines (*Pithomyces chartarum*) (Fitzgerald *et al.*, 1998).

La toxinogénèse d'un champignon ainsi que la quantité produite dépendent de la souche (*polymorphisme génétique*) et du stade de développement de la mycète (Blumenthal., 2004).

Enfin, la présence d'autres micro-organismes peut également modifier la concentration finale de mycotoxines. Des taux d'AFB1 ajoutée au lait avant fermentation à des concentration de 600 à 1400 µg/kg, ont été réduits respectivement de 97 à 90% dans le yaourt à pH 4. L'hypothèse émise est qu'au cours de la fermentation, les bactérie lactiques dégraderaient l'AFB1 (Rasic *et al.*, 1991). Une autre étude a également montré que certaines espèces fongiques seraient capables de dégrader des mycotoxines. C'est le cas d'*A. niger* qui convertirait l'ochratoxine A sur milieu YES (Varga *et al.*, 2000).

## 6.2. Facteurs extrinsèques de la mycotoxinogénèse :

Les facteurs extrinsèques ou environnementaux affectant la production de mycotoxines sont d'origine chimique, physique, physico-chimique ou biologique (Mitchell *et al.*, 2004). Cependant, ces facteurs agissent rarement d'une façon indépendante (Lacey., 1986) et leurs interactions sont habituellement plus importantes que l'effet d'un facteur simple.

### 6.2.1. Facteurs physiques, physico-chimiques et chimiques affectant la production des mycotoxines :

#### 6.2.1.1 Activité de l'eau :

L'activité hydrique nécessaire à la toxinogénèse est supérieure à celle permettant la croissance fongique (Pfohl-Leszkowicz., 2001).

La formation des aflatoxines par *Aspergillus flavus* nécessite une valeur d'*aw* comprise entre 0,83 et 0,87 mais la croissance du microorganisme peut avoir lieu à des valeurs d'*aw* plus basses (Troller., 1980).

#### 6.2.1.2. Humidité :

La disponibilité en eau à une influence déterminante pour les différentes mycotoxines y compris les aflatoxines, elle est compris entre 15 et 16 % et les toxines peuvent être synthétisées même à 8 % dans le cas d'aflatoxines B1, le cas des grains secs ou fruits à coque séchés.

Alors que pour des teneurs en eau élevées (céréale humides) la toxinogénèse est plus faible à cause du défaut d'oxygénation résultant du tassement de la denrée et de la moindre diffusion des gaz (**le bars., 1982**).

#### **6.2.1.3. Température :**

La température optimale de toxinogénèse est en général voisine de la température optimale de croissance, tant en demeurant légèrement inférieure tout en sachant que la plupart des moisissures se développent entre 15 et 30 °C (Les *Aspergillus* se plairont plutôt vers 30°C) sous des climats tropicaux, chauds et humides (**moreau., 1996, Sylviane dragacci et fremy., 1999**). Les conditions optimales de développement d'une moisissure donnée, sont 36 °C pour une AW de 0.95, alors que l'aflatoxine est produite à 33 °C pour une AW de 0.9 (**le bars., 1982**).

La combinaison température / humidité est la plus importante parmi les facteurs pouvant influencer la toxinogénèse.

#### **6.2.1.4. Composition gazeuse :**

Généralement, la production de mycotoxines est plus sensible à la variation de la composition de l'air que la croissance fongique. La réduction de la pression partielle en oxygène jusqu'à moins de 1% et l'accroissement des concentrations de CO<sub>2</sub> empêchent l'élaboration des mycotoxines (**Keller et al., 1997**) ; (**Cairns-Fuller et al., 2005**).

Après conservation dans une atmosphère confinée, dans laquelle les moisissures ne peuvent plus ou moins se développer, la remise à l'air libre ou la ventilation provoque rapidement une intense toxinogénèse.

#### **6.2.1.5. Nature de substrat :**

La toxinogénèse dépend également de la nature chimique du substrat dans ou sur lequel se développe l'espèce fongique. Une même espèce fongique peut produire des mycotoxines différentes selon le milieu. C'est le cas pour *P. verrucosum* qui produit de la citrine sur milieu YES, à la fois de la citrine et de l'*ochratoxine A* sur milieu analogue au pain, et aucune de ces deux mycotoxines sur un milieu analogue au fromage (eau 51%, matières grasses 24,5%, protéines 21,6%, cendres 2,9 %) (**Kokkonen et al., 2005**).

La composition qualitative et quantitative des substances nutritives peut influencer la production des mycotoxines. La présence de quelques substances dans les aliments, comme

le saccharose et les acides aminés, stimule la croissance fongique ainsi que l'élaboration des mycotoxines.

La présence de certaines molécules dans le substrat peut aussi influencer la production des mycotoxines. Ainsi, l'acide phytique diminue la synthèse d'aflatoxine par *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus flavus* alors que la proline stimule cette production

#### **6.2.1.5. Le pH :**

Comme pour l'aw, la gamme de pH permettant la toxinogénèse est plus restreinte que celle permettant la croissance fongique. En effet **Keller et al., (1997)** ont démontré que la production de fumonisine B1 est maximale à un pH compris entre 3,7 et 4,2.

#### **6.2.2.Facteur biologiques :**

##### **6.2.2.1 Prédateurs :**

Les insectes et les acariens sont des vecteurs de spores de moisissures qu'il induisent à l'intérieure même du grain par des lésions qu'il créent en effet, la contamination d'arachides, d'amandes et du maïs par *Aspergillus flavus* ou les aflatoxines avant la récolte sont souvent liées à l'attaque par les insectes (**benmansour ., 2005**).

##### **6.2.2.2 Mycoflore**

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

- D'une part , en fonction du contexte écologique , il existe une compétition pour le substrat
- D'autre part ,certain souche peuvent dégrader la toxine (**moreau., 1996**).

#### **7.Effet des mycotoxines :**

Les effets des mycotoxines sur la santé humaine et animale sont variés : Effets cancérologènes, mutagènes, tératogène immunosuppresseurs, oestrogéniques, nécrosants, neurotoxiques, néphrotoxique (**Untermann., 1998**), (**Gelderblom et al ., 2002**) ; (**Wangigar et al ., 2005**).

##### **3.6.1 Mutagenèse**

Le phénomène de mutagenèse résulte d'interactions entre des agents *mutagènes* et le matériel génétique des organismes.

L'action se traduit par des *mutations* génétiques et/ou des modifications chromosomiques, les *gènes* se situant en un point précis d'un chromosome. Les mutations au niveau du gène correspondent à des modifications au niveau des molécules d'*ADN*. Le gène peut être morcelé ou recombéné au niveau des segments d'*ADN*.

Les modifications chromosomiques correspondent à des anomalies de nombre (augmentation ou diminution) ou de structure (délétions, duplications, translocations) des *chromosomes*.

### **7.1.Cancérogénese**

L'*ADN* des chromosomes du noyau cellulaire est la cible privilégiée des agents cancérogènes (produits chimiques, radiations ionisantes).

Processus pathologique entraînant l'apparition de cellules malignes, envahissant progressivement les tissus et capables de migrer en provoquant l'apparition de foyers secondaires (métastases).

### **7.2.Teratogenese:**

Ce sont des substances qui agissent principalement sur l'embryon à des stades bien précis de son développement et qui induisent une ou des anomalies, se manifestant par des malformations

### **7.3.Immunotoxicite :**

Modification du nombre de cellules du système immunitaire.

2 types d'effets :

- L'immunosuppression : augmente la sensibilité aux infections
- L'immunostimulation : se manifeste par le développement d'une maladie auto – immune ou par un syndrome allergique
- Et touche aussi les cellules rénale (nephrotoxicité) et considéré comme substance qui cause des dommages au foie (hepatotoxicité).

**Tableau n°6 :** Effets des principales mycotoxines sur l'homme et mécanismes d'action cellulaires et moléculaires identifiés (AFSSA., 2009).

<b>Mycotoxine</b>	<b>Effets</b>	<b>Mécanismes d'action cellulaires et moléculaires</b>
<b>Aflatoxine B1 et M1</b>	Hépatotoxicité Génotoxicité Cancérogénicité Immunomodulation	Formation d'adduits à l'ADN Péroxydation lipidique Bioactivation par des CYP 450 Conjugaison aux Glutathion-transférases
<b>Ochratoxine A et B</b>	Néphrotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Impact sur la synthèse des protéines Inhibition de la production d'ATP Détoxication par les peptidases
<b>Trichothécènes (A et B)</b>	Hémato toxicité Immunomodulation	Induction de l'apoptose progéniteur Hématopoïétique et cellules immunitaires Impact sur la synthèse des protéines Altération des immunoglobulines
<b>Patuline</b>	Neurotoxicité Mutagenèse in vitro	Inhibition indirecte d'enzymes
<b>Zéaralénone</b>	Fertilité Reproduction	Liaison aux récepteurs oestrogéniques Bioactivation par des déshydrogénases Conjugaison aux glucuronyltransférases
<b>Fumonisine B1</b>	Lésion du système nerveux central Hépatotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Inhibition de la synthèse de céramide et altération du rapport sphinganine/sphingosine Altération du cycle cellulaire

## Chapitre IV : les aflatoxines

### 1. Qu'est ce qu'une aflatoxine :

Les aflatoxines (AFs) sont des métabolites secondaires hautement toxiques produites par différentes espèces fongiques toxigènes (*Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*...). Ces contaminants naturels de l'alimentation humaine et animale sont à la base de divers problèmes tels que les déficiences nutritionnelles, l'immunosuppression, le cancer du foie, les effets mutagènes et tératogènes (**Wagacha et Muthomi., 2008**). Elles ont été isolées pour la première fois en Angleterre en 1960, suite à des intoxications dans un élevage de dindonneaux (**Adams et al., 2002 ; Chapeland-Leclerc et al., 2005**).

Elle prolifère dans les atmosphères chaudes et humides notamment sur les grains et les céréales telles que les arachides (noix ; pistache ; cacahuètes ...) ; le café le maïs et le blé ... on la retrouve également dans le lait de vache

Les aflatoxines sont connues pour détenir des propriétés cancérigènes d'origines naturelles ; parmi les plus puissantes, leur ingestion à haute dose peut provoquer d'importants troubles hépatiques (jaunisse ; cirrhose ; nécrose et cancer du foie) rénaux et pulmonaires ; une diarrhée et une anorexie qui entraînent la mort (**santé-médecine., 2014**).

Les recherches menées sur les aflatoxines depuis une trentaine d'années ont établi la prévalence de deux principaux types d'aflatoxines :

-les aflatoxines du type **B**

-les aflatoxines du type **G** (**Schmidt et Esser., 1985**).

Les aflatoxines du type **M**, non moins importantes que les premières, ont été détectées pour la première fois dans le lait comme métabolites des aflatoxines du type **B**. Mais le plus important dans les produits alimentaires, et le plus potentiellement cancérigène est l'aflatoxine **BI** (**Richard and Lyon., 1986**) ; (**Schmidt et ESSER., 1985**).

### 2. Structure et propriété des aflatoxines

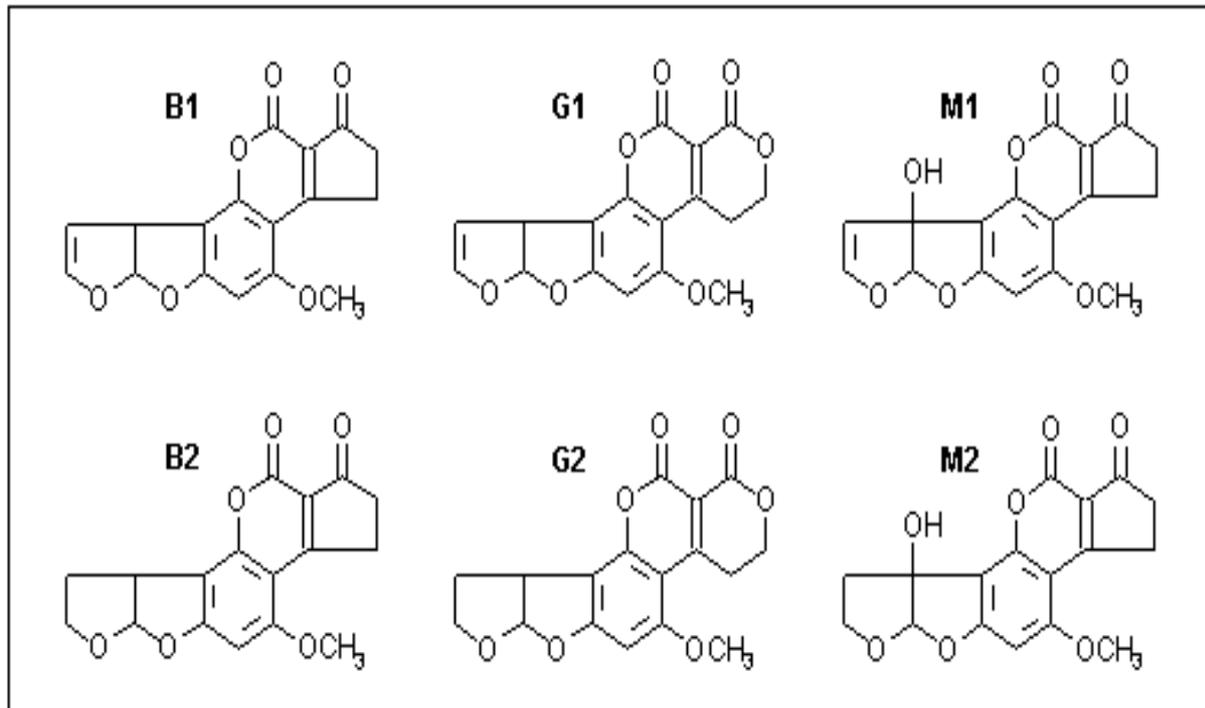
#### 2.1 structures :

La structure de base de la molécule d'aflatoxine est constituée de cycles bifurane coumarine-lactone/cyclopentanone. Les aflatoxines du type G possèdent un cycle lactone, tandis que celles du type B ont un cyclopentanone.

Chaque type d'aflatoxines est subdivisé en deux groupes (1 et 2) ; les aflatoxines du groupe 1, à la différence de celles du groupe 2, sont caractérisées par la présence d'une double liaison en C8,9 du premier anneau furane (figure 9). Les aflatoxines du type M possèdent un anneau

cyclopentanone comme celles du type **B**, mais sont hydroxylées en C10 (**Schmidt et Esser., 1985**).

Ce sont des molécules ne contenant pas d'azote, elles sont synthétisées uniquement à partir d'acétate par la voie métabolique. Elles possèdent une ressemblance très grande avec certaines hormones stéroïdes, (pwr).



**Figure 9:** Structure des aflatoxines

## 2.2 Propriété physicochimique :

Les aflatoxines sont des composés organiques de nature non protéique (figure 2). Leur propriété physico-chimique (PM point de fusion et rapport de frotton : RF) sont présentées dans le (tableau 3) L'aflatoxines est un composé thermorésistant stable même à des températures de 250c° pendant 30min à l'état cristallisé .

Les aflatoxines b1 et b2 présentent une fluorescence bleue à 365nm et sont produit par les souches toxigéniques de *Aspergillus flavus*

Les aflatoxines g1 et g2 (vert fluorexent) sont produit par les souches toxigéniques de *aspergillus parasiticus* qui en out produit des aflatoxines b1 et b2, certaine souches d'*Aspergillus* produiraient des aflatoxines **M1** et **M2**. (**Schmidt et Esser., 1985**)

### 2.3 Mobilité chromatographique :

En lumière ultra-violette, les aflatoxines présentent une fluorescence bleue « Blue » en anglais) ou verte « Green ». Ce qui permet de distinguer deux groupes : les aflatoxines B et les aflatoxines G. Chaque groupe étant constitué de 2 éléments auxquels on affecte un Indice "1" ou "2" selon leur mobilité chromatographique relative.

Le terme général d'aflatoxine regroupe donc 4 composantes majeures, B1, B2, G1 et G2. La mesure de l'intensité de fluorescence obtenue par rapport à celle d'un étalon est à la base du dosage physico-chimique de ces toxines.

**Tableau n°7 :** Principales caractéristiques des quatre Aflatoxines majeurs (**Andrian et al., 1996**).

Caractéristique	Aflatoxines			
	B1	B2	G1	G2
<b>Poids moléculaires</b>	312	314	328	330
<b>Température de fusion</b>	268-269	286-289	244-250	237-240
<b>Pouvoir rotatoire</b>	-560	-465	-545	-475
<b>Fluorescence en ultra-violet</b>	Entre 0.7 et 0.55	Entre 0.7 et 0.55	Légèrement moindre que celui des B	

### 3. Mécanisme de la biosynthèse de l'aflatoxine :

La biosynthèse des aflatoxines synthétisées par plusieurs espèces fongiques (*A. flavus*, *A. parasiticus*), a été très étudiée en raison des effets cancérigènes de ces mycotoxines (**Huff et Hamilton., 1979**), certaines étapes de la voie biosynthétique des aflatoxines sont jusqu'à nos jours mal comprises; de ce fait, la voie exacte de biosynthèse des aflatoxines n'est pas encore élucidée. Néanmoins, un consensus existe quant à l'étape initiale de leur biosynthèse. La synthèse commence avec des unités d'acétate (Figure 1.2) et de malonate ; qui sont métabolisées en AFB1 via des polycétones, avec pour intermédiaires principaux : l'acide norsolorine, l'avérufine, la versicolorine A et la stérigmatocystine (**CAST., 1989**). Un doute subsiste quant à l'existence d'intermédiaires non encore identifiés; par ailleurs, on se demande si l'AFB1 constitue le précurseur des autres types d'aflatoxines ou si ces derniers possèdent chacun sa voie de biosynthèse (**Schmid et al., 1985**). Les travaux *in vitro* sur la biosynthèse des aflatoxines constituent une des parties les plus importantes des recherches menées sur les aflatoxines. Ils concernent essentiellement: les dynamiques du métabolisme des hydrates de carbone, les activités enzymatiques du cycle de l'acide tricarboxylique et de la 9<sup>e</sup> voie d'Embden-Meyerhof, la polycétone synthétase, le rôle des métaux, le rôle des nucléotides et des acides aminés et enfin, l'influence du métabolisme des lipides sur la biosynthèse des anatoxines (**Bati et al., 1983**), (**Diener et al., 1982**). L'AFB 1, plus souvent rencontrée et plus toxique que les autres types d'anatoxines a été le point de départ des recherches sur les aflatoxines et de la recherche sur le cancer (**Wogan., 1996**).

#### 4. Toxicologie:

##### 4.1. Mécanisme d'action toxique :

Les effets pathogènes les plus marqués des mycotoxines se situent le plus souvent spécifiquement au niveau de certains organes comme le foie (aflatoxine), les reins (citrinine), le coeur (acide penicillique) et le système nerveux (acide aspergillique, penitrem A)(**Huwig A., 2001**).

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

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

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

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

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

##### 4.2. Effets toxiques :

Toxicité Les effets des mycotoxines sur la santé humaine et animale sont variés : effets cancérigènes, mutagènes, tératogènes, immunosupresseurs, oestrogéniques, nécrosants, neurotoxiques, néphrotoxiques (**Wangicar et al ., 2005**).

Les organes et les tissus cibles sont très divers : foie, reins, peau, système immunitaire, système nerveux, glandes endocrines. Des lésions irréversibles peuvent être produites. (cf .tableau II). Toxicité aiguë Si la denrée alimentaire est très fortement contaminée les mycotoxines peuvent être responsables d'épisodes d'intoxication aiguë d'évolution éventuellement mortelle. Chez l'homme ce type d'intoxication aiguë reste exceptionnel. Les premières manifestations décrites dès l'Antiquité se rapportaient à l'ergotisme. L'aleucie toxique alimentaire associe des lésions nécrotiques de la cavité buccale, de l'œsophage et de l'estomac à une forte toxicité hématologique (pancytopénie majeure).

En 1974, une épidémie d'hépatites aiguës en Inde a été responsable de 106 morts après l'ingestion de maïs contaminé par *Aspergillus flavus*, et une autre au Kenya, avec dans les deux cas, une forte concentration d'aflatoxines dans le sang des malades, d'où le nom d'aflatoxicose. La toxicité aiguë des aflatoxines est rarement évoquée, mais elle est toujours sévère, avec fièvre, hypoglycémie et encéphalopathie aiguë.

**Toxicité chronique :** Le danger des mycotoxines résulte d'une exposition chronique à de faibles quantités pendant une durée prolongée. La toxicité des mycotoxines dépend de la molécule en cause, de la fréquence d'exposition et de la quantité absorbée (**Gastagnero., 1999**).

La famille des mycotoxines la mieux étudiée est celle des aflatoxines. L'aflatoxine B1 est particulièrement redoutable pour sa cancérogénicité. La dose journalière tolérable est estimée à 0,15 ng/kg de poids corporel. Hors, d'après un avis du conseil supérieur d'hygiène publique de France, l'exposition moyenne de la population est de 1,6 ng/kg (1). Les enfants sont particulièrement exposés à cette aflatoxine du fait de leur alimentation (féculents, céréales, biscuits). L'ochratoxine A est mutagène et néphrotoxique (8H). Elle est responsable de la néphropathie endémique des Balkans. La patuline serait cancérogène chez l'animal. Sa génotoxicité n'est pas entièrement avérée. L'intoxication chronique par la patuline peut associer des troubles nerveux et une lymphopénie (**Biinghui et al., 2003**). La zéaralénone présente un puissant effet oestrogénique qui peut se manifester même à faibles doses chez de multiples espèces animales. Chez l'homme, elle serait responsable d'« épidémies » de puberté précoce. Les trichotécènes ont été à l'origine d'empoisonnements graves d'animaux et d'hommes, connus sous le nom d'aleucie en Ex-Union soviétique, Europe centrale, aux Etats-Unis et en Chine. Leur cancérogénicité est discutée. (centre international de recherche sur le cancer de l'OMS a évalué la cancérogénicité des mycotoxines.

Cette évaluation a permis de les classer en trois groupes :

**Groupe 1 :** comprend les aflatoxines B et G car il existe des preuves suffisantes de la cancérogénicité de ces molécules chez l'homme et l'animal.

**Groupe 2B :** regroupe les molécules pour lesquelles il existe des preuves presque suffisantes de cancérogénicité chez l'homme et /ou des preuves suffisantes chez l'animal. Le produit est un cancérogène possible. L'aflatoxine M1, ochratoxine A et les toxines de *Fusarium moniliforme* font partie de ce groupe.

Dans le groupe 2A : le produit est probablement cancérogène pour l'homme. Aucune mycotoxine n'y figure.

**Groupe 3** : rassemble les mycotoxines pour lesquelles il n'est pas possible de se prononcer quant à leur cancérogénicité chez l'homme ; il s'agit de la citrinine, la patuline, la zéaralénone, la toxine T2.

L'immunotoxicité des mycotoxines est bien connue dans les élevages d'animaux de rente. En revanche, sa pertinence chez l'homme est mal établie. Chez les animaux, les mycotoxicoses s'accompagnent fréquemment d'atteintes du système immunitaire expliquant le développement de surinfections. Ces symptômes sont visibles même chez les animaux exposés avec une alimentation faiblement contaminée (Lioi ,m,b et all2004), (Oswald,2000).

### **5. Limites maximales pour les mycotoxines dans les aliments dans certains pays européens et les USA (Creppy., 1995) :**

Les limites maximale pour les mycotoxine dans les aliments se résume dans le tableau si dessous :

**Tableau n°8** : Limites maximales pour les mycotoxines dans les aliments dans certains pays européens et les USA

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

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

## **6. Détection et dosage :**

Depuis une vingtaine d'années, les techniques de détection et de dosage nécessaires pour répondre au besoin de contrôle ou d'autocontrôle n'ont cessé d'évoluer. La chromatographie sur couche mince a été utilisée pendant longtemps mais, par cette technique, il est devenu difficile de mesurer les teneurs maximales autorisées par les règlements européens, trop basses pour cette technique. Elle a donc été remplacée avantageusement par la chromatographie liquide haute performance (HPLC) qui est particulièrement intéressante pour la détermination des très basses concentrations, pour la spécificité de ses modes de détection et pour ses possibilités d'automatisation. De nombreux protocoles analytiques existent. La technique la plus couramment utilisée est la HPLC avec détecteur spectrofluorimétrique. Les propriétés naturelles de certaines mycotoxines à fluorescer sont exploitées (zéaralénone, ochratoxine A) ; pour d'autres on exalte leur fluorescence, par exemple par dérivation post-colonne à l'iode ou au brome dans le cas des aflatoxines. Certaines molécules comme les fumonisines sont rendues fluorescentes par dérivation pré-colonne avec l'orthophthaldialdéhyde. La CLHP avec détecteur spectrophotométrique est utilisée pour les analyses de patuline, de nivalénol et déoxynivalénol. On voit actuellement se développer une technique de détection plus coûteuse : la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse. La chromatographie en phase gazeuse est surtout utilisée pour la détection de molécules du groupe des trichothécènes dans les céréales, avec détection par capture d'électron ou spectrométrie de masse. Les tests immuno-enzymatiques (ELISA) sont souvent considérés comme une méthode de tri. Cette technique est rarement retenue dans les méthodes normalisées et doit toujours être associée à une étape de confirmation par méthode classique (OCL-JOURNAL., 2003).

## **7. Procédés de prévention et de réduction des mycotoxines dans le produit alimentaire :**

Plusieurs procédés ont été étudiés afin de prévenir la contamination des matières premières par les mycotoxines. Chaque essai doit non seulement réduire la concentration des toxines mais aussi éviter que les produits de dégradation ne soient toxiques ou détériorent la qualité nutritionnelle des aliments traités. Selon LopezGarcia et Park (1999) un système de lutte intégré contre les mycotoxines doit se concevoir à trois niveaux de production:

### **7.1. Lutte avant récolte**

Sous des climats type tropicaux chauds et humides jugés à risque, la prévention aux champs consiste en l'utilisation raisonnée d'insecticides, et ce dans le but de diminuer les lésions des plantes et réduire de ce fait les portes ouvertes à l'envahissement par les moisissures ou l'utilisation de fongostatiques inhibant la croissance des moisissures et empêchant la toxino-génèse. 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.

### **7.2. Lutte au moment de la récolte**

Le moment de la récolte a une grande influence sur la production des mycotoxines. 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.

### **7.3. 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, elles doivent être simples à mettre en œuvre et peu coûteux puisque le traitement peut concerner des tonnages importants.

Selon **Park (1993)**, les trois procédés d'élimination des aflatoxines (physiques, chimiques ou biologiques) constituent les stratégies de lutte les plus courantes après récolte, les méthodes sont nombreuses et varient selon le type de mycotoxines, mais 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.

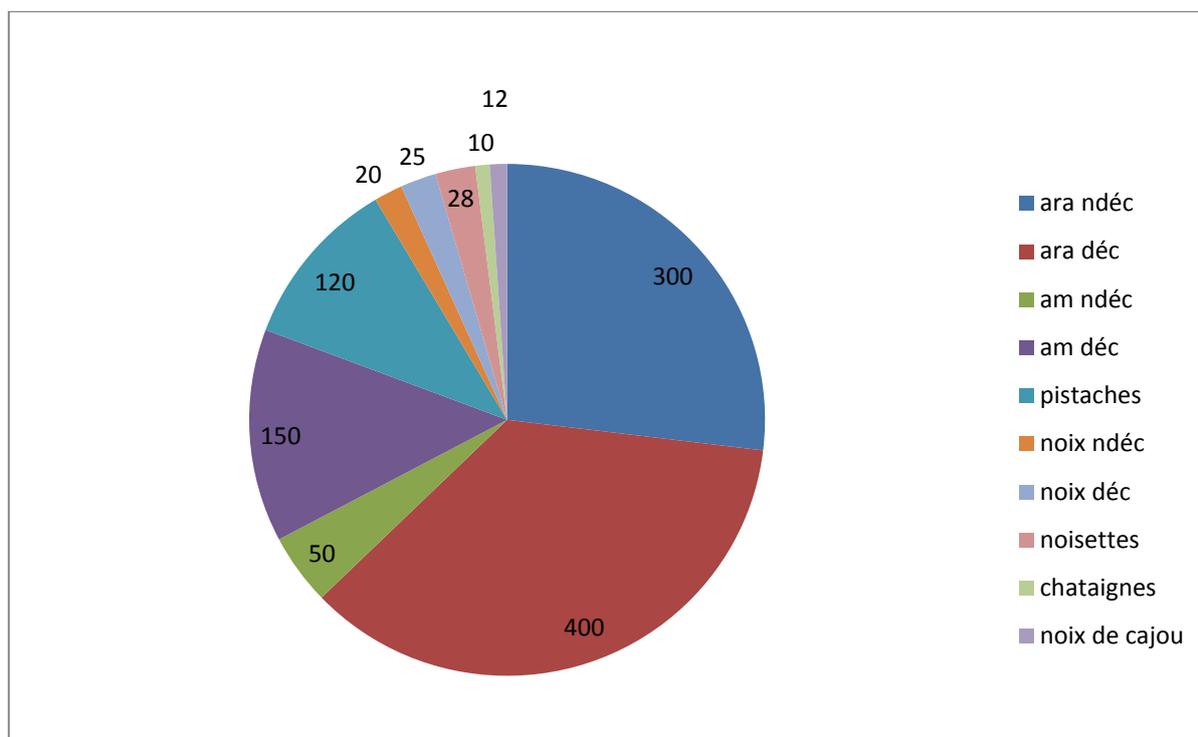
# Matériel et méthodes

### 1. Lieux d'étude :

Notre étude s'est déroulée au laboratoire de biochimie département de biologie à la faculté SNV/ TLM .

### 2. Echantillonnage :

Suite à un sondage effectuée par **Sib et al (2005)**, sur une population de 1000 consommateurs et 75 grossistes de la région de Tlemcen. Le choix de l'échantillon a été fait d'après les résultats de ce sondage dans la figure n°10 ci-dessous.



**Figure n°10** : Résultat du sondage des fruits à coque (**Sib et al., 2005**)

L'échantillon a été prélevé de différents grossistes de la wilaya de tlemcen qui se composent de :

- 3 échantillons d'arachide (décortiquée, avec enveloppe, sans enveloppe à peaux blanche).
- 3 échantillons d'amande (décortiquée, avec enveloppe, sans enveloppe à peaux blanche).

### **3. Analyse mycologique :**

#### **3.1. Isolement :**

La microflore des échantillons de fruits à coques choisis a été isolée par deux méthodes :

##### **3.1.1. Méthode directe d'ulster :**

C'est une méthode de mise en évidence de la moisissure de surface et de profondeur des grains étudiée

Tapisser la boîte de pétrie stérile par un papier filtre ou papier Josef imbibé d'eau distillée. Afin de créer une atmosphère humide dans la boîte et en y mettre 5 grains dans la boîte

L'incubation se fait à 25°C pendant 5 à 7 jours. Cette méthode est préconisée pour le cadre de la détermination de la flore de surface d'un aliment pour juger l'efficacité de tel ou tel mode de stockage, Elle étudie l'évolution de l'entreposage.

##### **3.1.2. Méthode indirecte de dilution :**

Lorsqu'il s'agit d'étudier l'évaluation dynamique d'une flore fongique pour juger l'efficacité de tel ou tel mode de stockage, un dénombrement de la flore totale ou limité à certaines espèces peut suffire.

C'est la méthode de dilutions classique qui concerne les aliments fractionnés. Elle consiste à dénombrer les propagules fongiques.

La règle de dilution :

$$D = X \times 9$$

D : volume de diluent

X = masse d'échantillon

On prend 5g de graines broyées mise en suspension dans 45ml d'eau physiologique stérile additionné de 2 gouttes de tween 80, c'est la solution  $10^{-1}$ .

-une série de dilutions ( $10^{-1} / 10^{-2} / 10^{-3}$ ) sont ainsi faite à partir de solution mère ainsi décomptée dont le but est de faire diminuer la charge et avoir des individus isolés pour pouvoir les purifier, après on dépose 1mL de charge de chaque sont déposée et ensemencé en râteau sur la surface du milieu PDAac.

Pour éviter la contamination bactérienne ; le milieu PDA est soit acidifié jusqu'à un (pH de 4.5 à 5), en lui ajoutant 1ml d'acide lactique 25% soit en ajoute 2mL de rose Bengale qui inhibe

la croissance bactérien et favorise la croissance des champignons .Après l'incubation se fait à 25c° pendant 5 à 7 jours .

### 3.1.2. Purification :

Les moisissures retrouvées sont repiquées et purifiées sur les boîtes de Pétri contenant PDA acidifié jusqu'à l'obtention des isolats purs dans des tube incliné aussi conservée à 4°C pour une éventuelle utilisation.

## 4. Identification :

### 4.1. Identification des genres :

L'identification est une étude corrélative ente les caractère macroscopiques qui comportes les critères suivants (texture ,couleur de thalle, couleurs du reverse ,présence d'un pigment ,présence ou absence du sclerotte et la taille) et microscopiques.

On se qui concerne ces derniers caractères on procède soit à la technique de micro culture décrit par **Haris (1989)** qui donne des détails plus poussés sur les caractères morphologiques des différentes moisissures ou à la technique du scotch.

La méthode de microculture (**Hans., 1989**) ou de scotche et en se référant au manuel de **Barnett & Hunter, 1972** et **Breton in Larpent, 1990** , consiste mètre quelques gouttes de lactophénole ou le bleu de coton sur une lame, ces deux produits gonfle des filaments des moisissures et permettent une bonne observation microscopiques

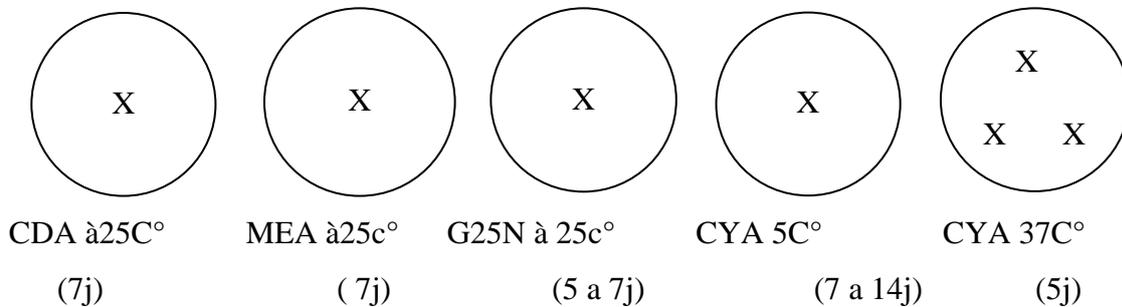
On applique un ruban de scotche délicatement sur la colonie fongique (méthode d'ulster ou la méthode de dilution), puis on le dépose sur la lame déjà préparée .

Après cultures les observation se fait aux grossissement ( x10),( x40) et( x100)avec quelque gouttes d l'huile a immersion .

### 4. Identification des espèces:

Les espèces appartenant aux genres *Penicillium* et *Aspergillus* sont identifiées par la Méthode de **Single spore (Pitt, 1985 et Rameraz, 1982)**, qui consiste à inoculer un tube à hémolyse remplie 2/3 de son volume d'agar et tween 80 0,3 à 0,4% et qui à pour but la dilution des spores pour l'ensemencement des milieux de culture. Après agitation du tube au vortex, des gouttes de cette suspension sont déposées sur les milieux: CDA, CYA, MEA et

G25N selon la figure ci-dessous\_ et l'incubation se fait a différents températures pendant 5 a14jour.



**Méthode de Single spore : (Pitt, 1985 et Rameraz, 1982)**

Les diamètres des colonies et leurs couleurs sont rapportés après une et deux semaines de croissance.

L'identification des espèces de *Penicillium* est réalisé selon le manuel de **Rarnirez, (1982)** et pour les espèces d'*Aspergillus* selon le livre de **Pitt et Hocking,( 1985)**.

**1.6 Confirmation sur milieu AFPA:**

Ce milieu confirme l'appartenance au groupe *Aspergillus.flavus,parasiticus*. Dans ce milieu, la couleur du revers de la colonie est jaune-orange après une incubation de 5 à 7 jours à 25°C et cela veut dire que la souche est toxigène. A l'inverse la souche *A. Niger* qui quelques fois donne un reverse jaune et non orange.

Il y'a aussi *A. ochraceus* qui produit un revers jaune mais sa croissance est lente par rapport à *A. flavus* (**PITT et al. 1985**).

# Résultats

## 1. Isolement :

### 1.1. Méthode d'ulster :

L'isolement des moisissures a été réalisé par la méthode d'ulster ou la méthode directe de **Botton et al., (1990)** qui repose sur le principe de stimulation du développement des moisissures par incubation des grains directement déposés sur un papier filtre imbibée d'eau distillée.

Pour l'identification des genres, nous avons examiné les caractères cultureux et morphologiques (**Bouchet., 2005**). En effet, pour les caractères cultureux nous avons: vitesse de croissance; couleur des colonies; texture du thalle; présence ou absence des mucorale ; couleur et changement de la couleur du milieu; présence ou absence d'odeurs caractéristiques.

Les figures n°11 et n°12 représentent le pourcentage des graines contaminées d'amande et d'arachide par les souches fongiques révélées par la méthode d'ulster.

On a pu constater que le taux de contamination les plus élevée était dans les amandes avec 60% de **mucoral** et moins contaminée en **Alternaria** a 5% et les autres souches fongique **Penicillium, A.niger** et levure. Concernant le taux de contamination des arachides les plus élevée était avec 72% de mucoral et moins contaminée en **A.niger** et **A.spp** a 4% , les autres souche fongique **A.flavus** et levure.

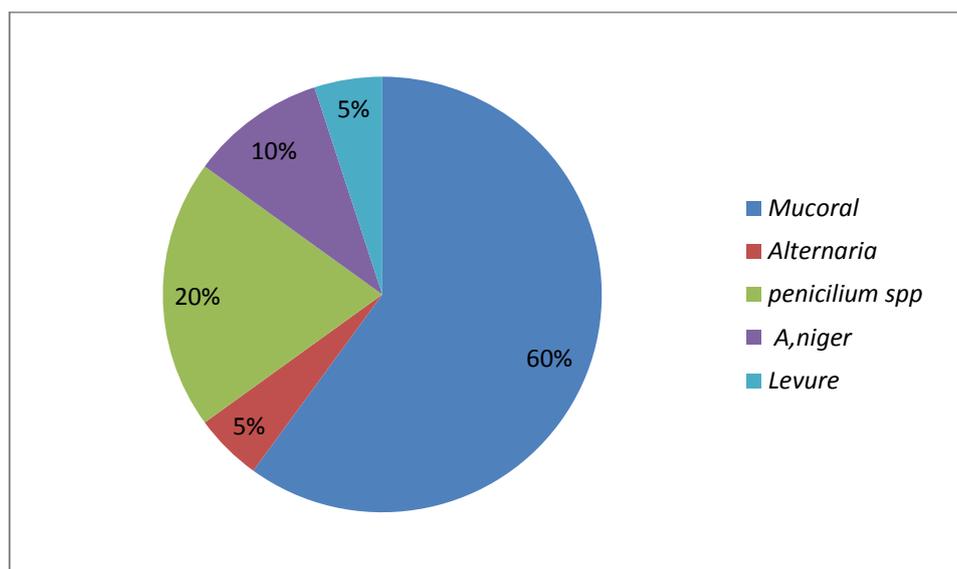


Figure n° 11 : Répartition des différents isolats fongiques isolés dans les échantillons des amandes étudiés.

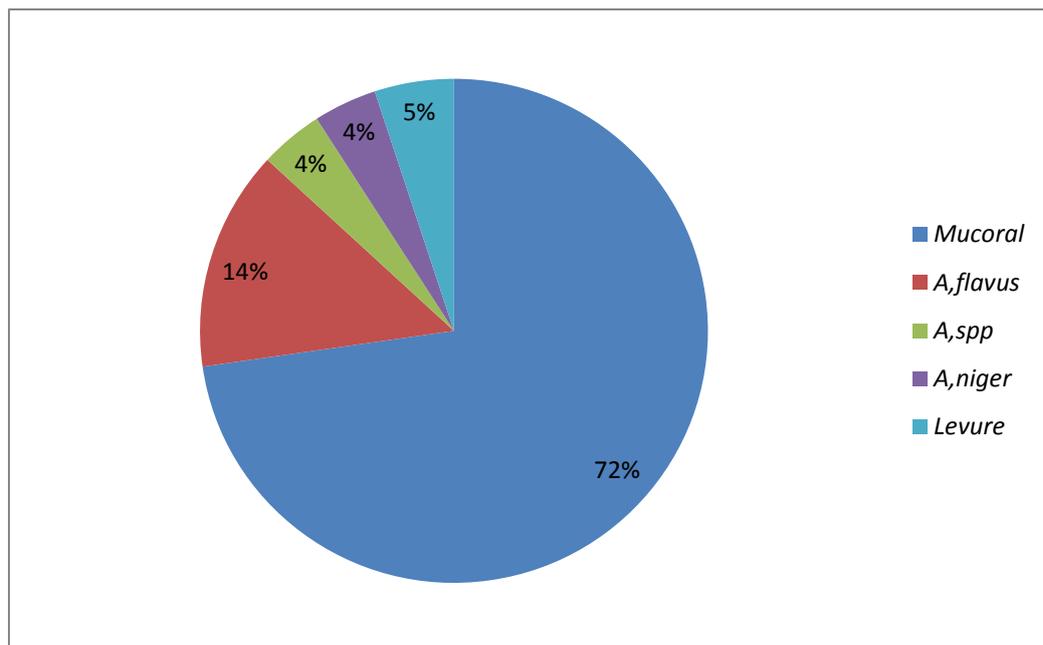


Figure n°12 : Répartition des différents isolats fongiques isolés dans les échantillons des arachides étudiés.

### 1.2. Méthode de dilution :

Une biodiversité fongique est assez importante (moisissure et levure) a été révélée, après effectuée une analyse mycologique de nos échantillons sur milieu PDA ac.

### . Mycoflore totale :

Obtenue et illustrée dans la figure n°13et n°14 dans le milieu de culture PDA ac .

le taux de contamination fongique le plus élevée dans l'échantillon des amandes avec enveloppe a 3.5% et les moins contaminée amande décortiqué et concernant des arachides le taux de contamination le plus élevée était pour les échantillons d'arachide sans enveloppe a 4.5% et les mois contaminée arachide décortiquée.

### .Mycoflore spécifiques :

Illustrée si dessous dans la figure n°14 et n°15 les différentes souches fongiques obtenues sur milieu PDA ac

Les différents souche obtenus sont *A.niger* , *A.flavus* , *A.parasiticus* ,*A.spp* ,*Alternaria* ,*Penicillium.spp* , *Rhisopus* .On a constaté que les amandes sans enveloppes sont les plus contaminées par la souche *A.niger* avec un taux de 2% et pour les arachides avec enveloppe sont classée premier contaminée de la même souche avec un taux de 1.25%.

Alors les arachides et les amande sans enveloppe et avec enveloppe sont les moins contaminées avec des valeurs de 0.5% et les espèces retrouvées sont *A.parasiticus* et *A.spp.*

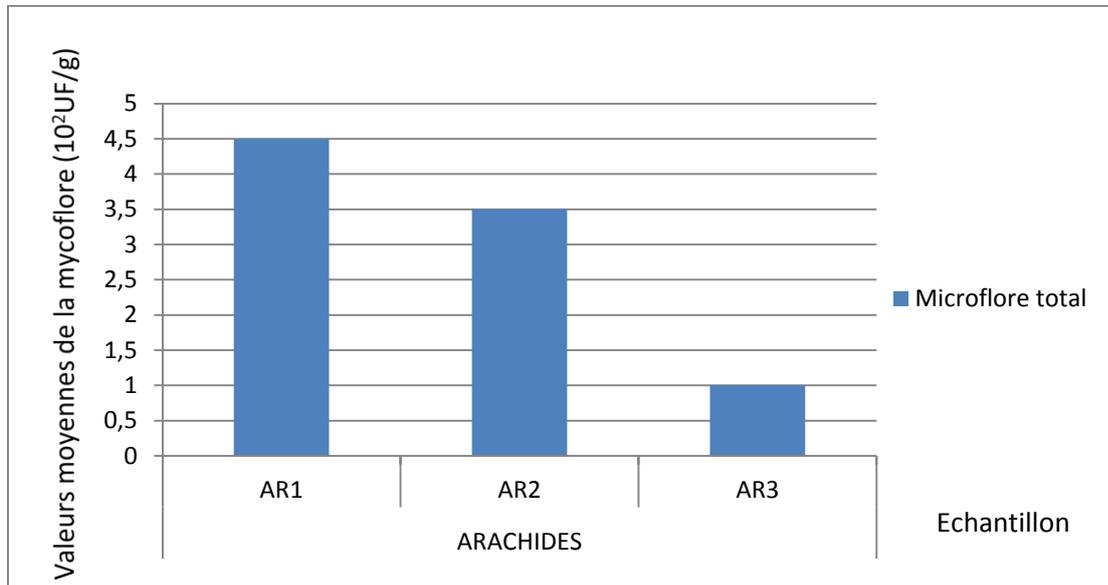


Figure n° 13 : Mycoflore totale isolée des arachides  
 (ar1) :arachide sans enveloppe ;(ar2) :arachide avec enveloppe ;(ar3) :arachide a coque

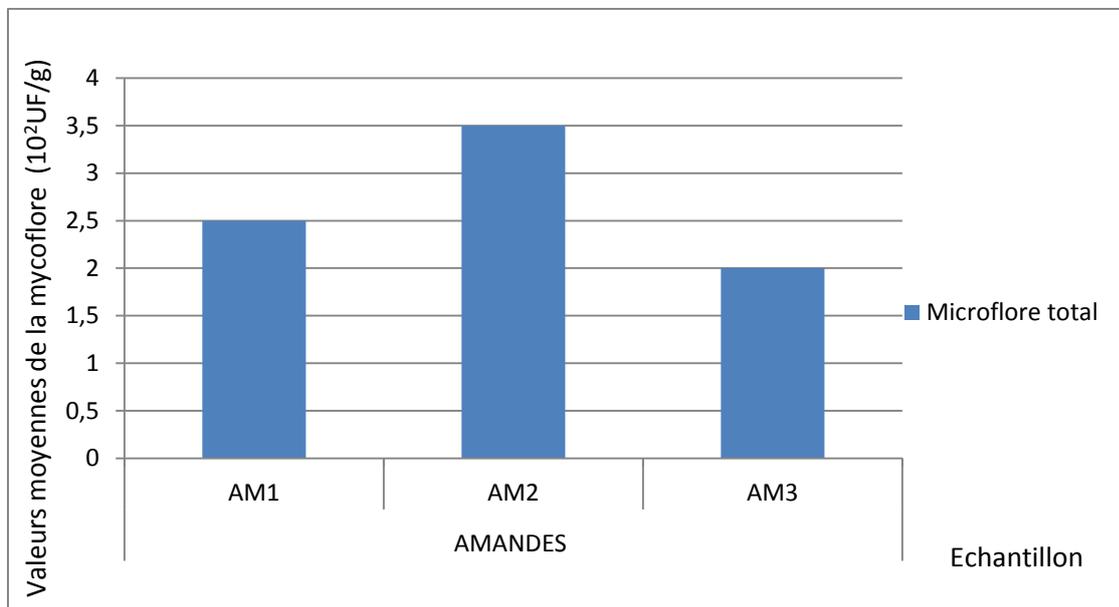


Figure n°14: Mycoflore totale isolée des amandes  
 (am1) :amande sans enveloppe ;(am2) :amande avec enveloppe ;(am3) :amande a coque

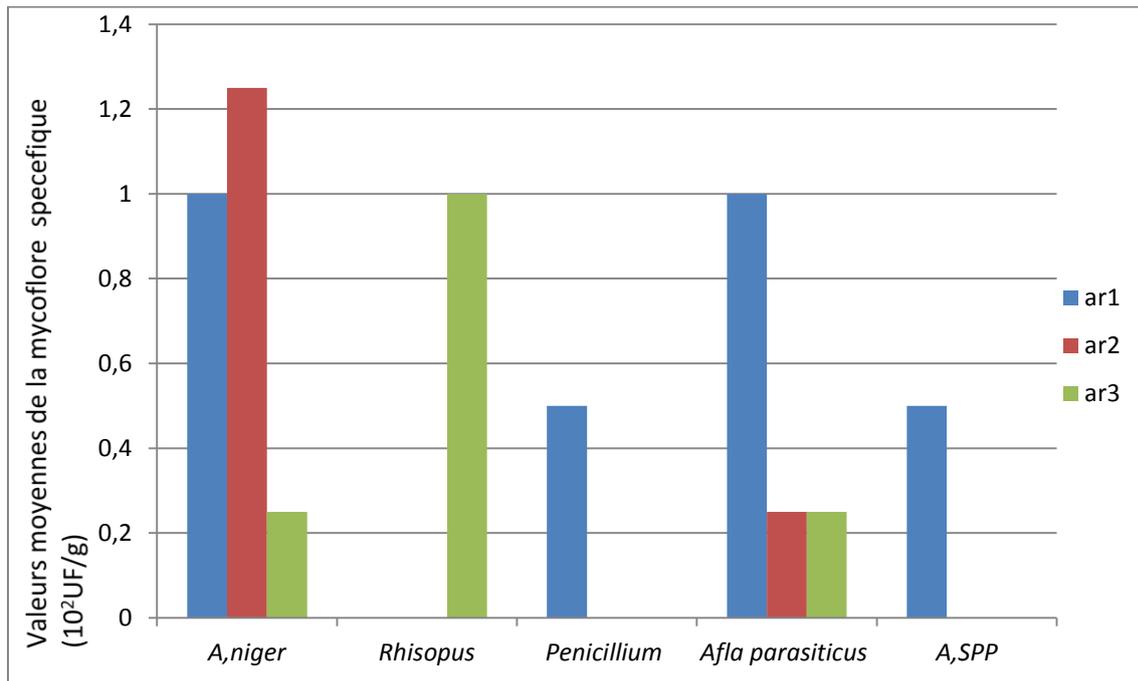


Figure n°15: Mycoflore spécifique isolée des échantillons des arachides

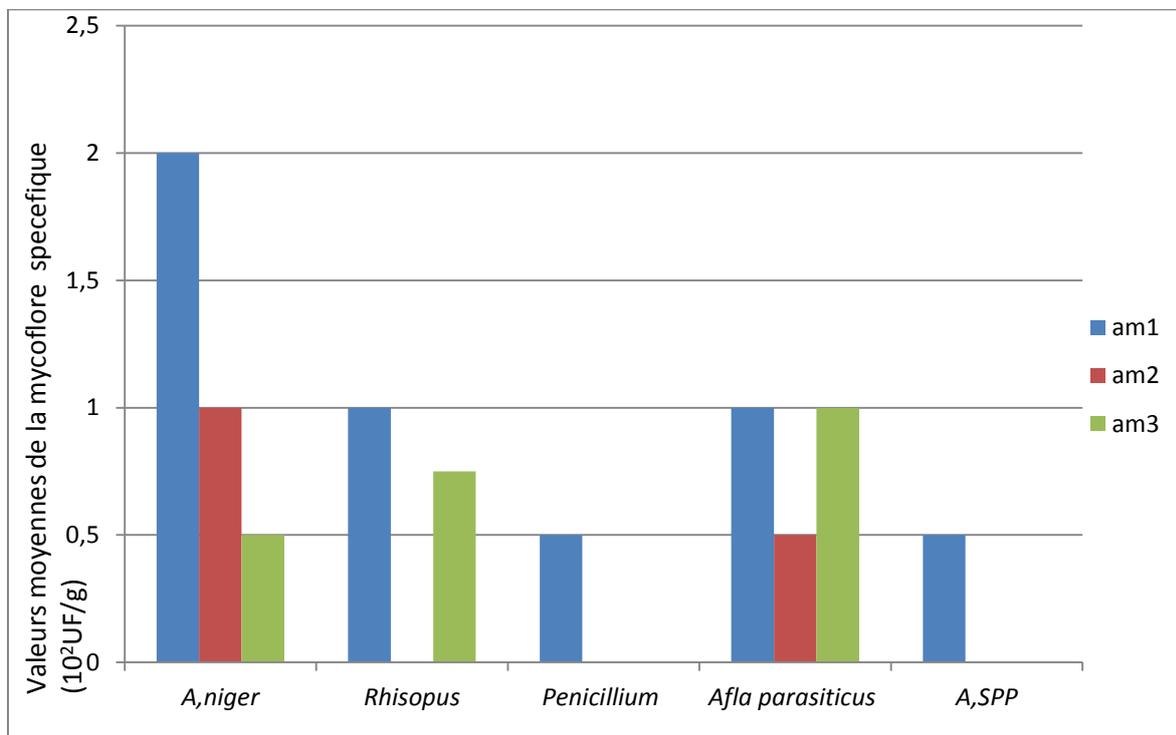


Figure n°16 : Mycoflore spécifique isolée des échantillons des amandes .

**a. c identification des moisissures :**

L'identification des espèces pour les genres *Aspergillus*, *Penicillium* a été réalisée après la culture des différents milieux et à différentes températures, en se référant aux ouvrages de **PITT (1973)** et **CARLOS RAMIREZ (1982)**, la détermination des espèces se fait après lecture des diamètres, la couleur des mycéliens et des métabolites produits, les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau ci dessous :

Tableau n°9 : identification des espèces d *Aspergillus*

Espèces	Milieux de culture	Couleurs de colonies	Diamètres des colonies (mm)	
<i>A.parasiticus</i>	MEA	Vert pistache	56	
	G25N	Jaune pale	49	
	CDA	Vert pistache	77	
	CYA	37°	Vert jaunâtre	56
		5°	absence	Abs
	AFAP	blanche	52	
<i>A.ochraceus</i>	MEA	Vert pistache et contour blanc	40	
	G25N	Jaune verdâtre	36	
	CDA	blanche	43	
	CYA	37°	abs	Abs
		5°	Abs	Abs
	AFAP	blanche	39	

<i>A.tamaritii</i>	MEA		Blanc jaunâtre	55
	G25N		Blanche	52
	CDA		Blanc	62
	CYA	37°	Vert pistache	46
		5°	Abs	Abs
	AFAP		Blanc	52
<i>A.fumigatus</i>	MEA		Blanc	/
	G25N		Blanc	23
	CDA		Blanc le centre vert pistache	50
	CYA	37°	Blanc	52
		5°	Abs	Abs
	AFAP		Blanc centre vert	30
<i>A.terreus</i>	MEA		Marron	45
	G25N		Blanc jaunâtre	40
	CDA		/	/
	CYA	37°	Marron pale	56
		5°	Abs	Abs
	AFAP		/	/
<i>A.niger</i>	MEA		Noir	45
	G25N		/	/
	CDA		/	/
	CYA	37°	GRIS	38
		5°	/	/
	AFAP		/	/

Tableau n°10 : identification des espèces *Penicilium*

Especes	Milieux de culture	Couleur des colonies	Diametres des colonies (mm)	
<i>p.hispanium</i>	G25N	beige	30	
	CDA	Blanc centre vert	43	
	MEA	vert	33	
	CYA	37°	Vert kaki	33
		5°	Blanche	15
<i>p.italicum</i>	G25N	blanche	30	
	CDA	bleu blanchâtre avec sclérotés	38	
	MEA	blanc	35	
	CYA	37°	abs	Abs
		5°		Mc
<i>p.verrucosum</i>	G25N	jaune	26	
	CDA	vert	32	
	MEA	vert	35	
	CYA	37°	vert	Mc
		5°	vert	
<i>p.expansum</i>	G25N	blanc	28	
	CDA	Bleu blanchatre	35	
	MEA	blanc	40	
	CYA	37°		Mc
		5°		



Photo n°1: *A.niger*



Photo n°2: *P.verrucosum*



Photo n°3: *A.flavus*



Photo °4: *A.tamarii*



Photo n° 5:*A.parasiticus*



Photo n°6: vu microscopique  
de *A.flavus*

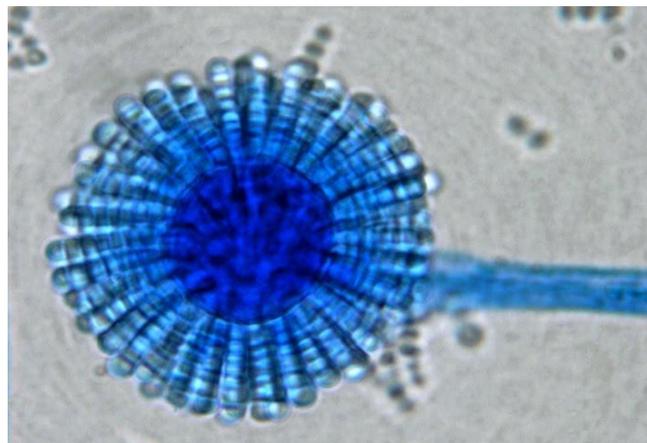


Photo n°7: vu microscopique de *A. niger*

Une présence importante des différentes espèces fongiques dans nos fruits à coque, est due probablement à la présence des conditions propices à leur croissance.

Vue que composition chimique des fruits à coque constitue un substrat préférable pour les moisissures, nos résultats montrent que le taux de contamination de ces fruits à coque par les Mucorales est le plus élevé, suivi de celui des *A. niger*. Comparativement avec les études de **Benmansour-Brixi (2005)**, le taux de contamination de l'espèce *A. Niger* est le plus dominant. Cette différence peut être expliquée par la durée de stockage, l'origine des grains et la période de prélèvement.

Beaucoup d'autres auteurs reportent détérioration des grains oléagineux constitue un substrat approprié pour la croissance, le développement et l'activité des moisissures de détérioration (**Cuero et al., 1987 et Lacey., 1990 in Oyebanji et Efiuvwevwere., 2000**).

La méthode d'ulster donne les pourcentage de germination et de contamination des grains contaminés par les moisissures, les proportions sont inversement proportionnelles et sont illustrés dans les figures 1,2 .

Le taux de contamination est très bas il y a qu'une seule graine qui a pu germer tandis que les mucorales dominent les contaminants dans les arachides et les amandes avec un pourcentage de 0.38%

L'envahissement par les mucorales influe sur les autres espèces fongiques qui se présentent par un faible taux de contamination vu la vitesse de croissance des premiers qui ne laissent pas la chance de survie des autres contaminants.

La méthode de dilution a révélé la présence d'une importante biodiversité fongique sur milieu PDA ce qui a permis l'identification de différentes souches fongiques

En comparant à la méthode d'ulster, cette dernière a dévoilé une biodiversité moins importante. En effet les genres comme *hyalodendron* et *trichoderma* ce sont révélés absents dans cette méthode et cela nous a amené à dire que ces genres ne constituent pas la flore réelle de nos fruits à coque, autrement dit cette flore n'est pas physiologiquement active sur le substrat.

La caractérisation macroscopique et microscopique permet l'identification des genres en se référant au guide de **Bamett et Hunter (1972)** tandis que la méthode d'ulster nous donne plus de détails avec l'identification approfondie des genres espèces en se référant avec guide de **Pitt., (1973) et Carlos Ramirez., (1982)**

Les espèces fongiques identifiées sont : *A. parasiticus* *A. niger* *A. tamarii* *A. ochraceus* *A. fumigatus* , *A. terreus* , *P. hispanium* , *P. italicum* , *P. verrucosum* , *P. expansum* , *Rhizopus* *A. spp* .

nos résultats révèlent la dominance des mucorales (*Mucor*, *Rhizomucor*, *Abstedia* et *Rhizopus* ) suivi par les espèces d'*A.niger* et cela concorde pas avec les résultats de **Benmansour (2005)** qui a trouvé la dominance des espèces d'*A.niger* cette différences peut être expliqué par le type d' échantillons, la durée de stockage l'origine des grains oléagineux et la période de prélèvement

D'autres travaux similaire de **Sib et al 2005** montrent une forte présence de Mucoral dans les échantillons de fruit a coques (arachide, amande, pistache) surtout décortiquée, ce **Cahagnier(1996)** estime que les conditions de conservation sont médiocres .

Les souches toxinogènes des groupes *A.flavus* et *parasiticus* étaient présentes dans nos échantillons d'amandes et d'arachides.

Celles –ci étaient ainsi omniprésentes chez **Sib et al (2005)** dans les amandes mondées et les pistaches décortiquées .Leur impact négatif réside dans l'altération des substrats (qualité organoleptique : gout ,couleur ,saveur , texture )et dans la sécrétion des aflatoxine dont l'aflatoxine B1 qui est la plus redoutable par son effet cancérigènes et genotoxique.

Le présent travail est une contribution à l'étude mycologique et recherche des souches toxigènes des fruits à coques commercialisés dans le marché algérien plus exactement dans la ville de Tlemcen cette étude dévoile la présence d'une grande biodiversité de contaminants fongique.

Les plus dominants sont les mucorales (indiquant le mauvaise condition de stockages)

La corrélation entre les caractéristiques macroscopiques et microscopiques nous à permis de faire une identification des souches

De *Rhizopus*, *Mucor*, *Absedia*, *Aspergillus nidulans*, *Penicillium et cladosporium*, *Alternaria*

La métothe de single spore dévoile la présence de 6 souches -d'aspergillus

*A. parasiticus* *A.ochhraceus* *A.tamarii* *A.fumigatus* *A.terreus* *A.niger* et 4souches de piniciliume

*p.hispanium* *p.italicum* *p.verrucosum* *p.expansum*

Ceux-ci montrent que ces niveaux de contaminations sont assez inquiétants à savoir que la majorité de ces souches sont toxigènes secrètent des mycotoxines y compris les aflatoxines qui sont dangereuses et perverses donne des effets génotoxique cancérigènes néphrotoxiques et leur effets qui est chroniques s'avère plus grave

Pour cette raison, nous devons fournir toutes les mesures préventives pour lutter contre ces contaminants de la chaine alimentaire, pour cela reglementation doit etre appliquée et des mesures strictes doivent etre mise en place pour la toxigenèse des souches identifiées .

Recherches d'autres mycotoxines tels que les Ochratoxines et trichotécène et déterminer la dose journalière **adnise DIA** des aliments à risque mycotoxicologique .

# Références bibliographiques

1. **Abarca, M.L., Bragulat, M.R., Castella, G., Cabanes, F.J. 1994.** Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var-niger. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 2650-2652.
2. **Adams M. R., & Moss, M. O. (2002).** Toxingenic fungi. In, *Food microbiology*, RSC, UK, 282-301.
3. **ADRIAN J. Les aflatoxines III. Moyens de prévention et de détoxification. Oléagineux, 1969, 24 0 (3), pp 155 - 159.**
4. **Amande dans l'encyclopédie izynew .site web**  
En ligne <<http://www.izynews.com/fr-e/amande><. Consulté le 25mai2017
5. **Anonyme.2000.** « LES mycotoxines »  
En ligne <[http //dv.kakito.com/mycotoxine.htm](http://dv.kakito.com/mycotoxine.htm)<. consulté 26mai2017.
6. **ANSES, Tableau de composition nutritionnelle Ciqua, 2008.**
7. **Af.J.1988.** *Reprod. Health Aflatoxine Blet reproduction La gamétotoxicité chez les rats femelles La performance reproductive des rats.*
8. **ANDARY, C et Med,Chir. 1988.**« Les mycotoxines ». *Encycl. (paris, France) Intoxications 16070 AID 1, 4p*
9. **Article disponible sur le site <http://www.ocl-journal.org> ou <http://dx.doi.org/10.1051/ocl.2003.0306>.**
10. **Avis du 8 décembre 1998.** du conseil supérieur d'hygiène publique relatif aux mycotoxines dans l'alimentation - évaluation et gestion du risque
11. **BATI, C., SOLBERG, M. and CEPONIS, M. 1983.**Effect of volatile components of Carrot seed oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *J. Food science* 48 : 762-768.
12. **Benmansour brixi gormat 2005** « etude microbiologique et mycotoxicologique blés stocker dans la région de tlemcen influence les facteurs physiques sur l'aflatoxinogénèse » thèse de magister algerie , institue de biologie faculté des sciences . université bjillali bilabiés
13. **BIING-HUI LIU, FENG-YIH YU, TING-SHUAN WU, SHUAN-YOW LI, MAO-CHANG SU, MEICHINE WANG et SHIN-MEI SHIH. 2003.**Evaluation of genotoxic risk and oxidative DNA damage in mammalian cells exposed to mycotoxins, patulin and citrinin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, volume 191, ; 255-263.

14. **BLANC M. 1982.** Contribution à l'étude et au dosage des aflatoxines dans les denrées alimentaires. Act. Scientifique et Technique en Industrie Agro-Alimentaire .1982, N°29 .473.
15. **Bluhm, B.H., Woloshuk, C.P. 2005.**  
Amylopectin induces fumonisin B1 production by *Fusarium verticillioides* during colonization of maize kernels. *Molecular Plant Microbe Interaction* 18, 1333-1339.
16. **Blumenthal, C.Z. 2004.** Production of toxic metabolites in *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* and *Trichoderma reesei*: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 39, 214- 228.
17. **Bouix , et all 1993** « les moisissures » in microbiologie industrielle les micro-organismes à intérêt industrielle . collection science et technique agroalimentaire . paris . TEE it doc (la voisier ) chapitre 2 p 149-196
18. **Bourgeois , C,M, G , F , Met j, z 1996** « les moiissures » im morobiologie tomel ; aspect microbiologique de la securité alimentaire des aliments : tec et doc( la voisine) chapitre 3 , p 238-248
19. **BUSBY W,f. Jr and VOGAN G.N. 1986 .** « Aflatoxins in mycotoxins and N nitrosocompounds Environmental Risks ». 1981. Vol.II : edited by R.C shank .pp 105 – 119. CRC Press Boca Ratou, FI.
20. **.Cahagnier, B., Dragacc,S.Frayssinet,C.J.M.Frémy, Hennebert, G.L.Lesage-meessen,L.Multon,J.L.Richard-Molard,D.&Roquebert,M.F.1998.** ) Moisissuers des aliments peu hydrates. Lavoisier Tec&Doc, France.
21. **Cairns-Fuller, V., Aldred, D., Magan, N. 2005.** Water, temperature and gas composition interactions affect growth and ochratoxin A production by isolates of *Penicillium verrucosum* on wheat grain, *Journal of Applied Microbiology* 99, 1215-1221
22. **CAST (Concil for Agricultural science and Technology). 1989.** CASTAGNERO (M.) - Risques cancérogènes, In : Pfohl-Leszkowicz, A (Ed) Les mycotoxines dans l'alimentation, Evaluation et gestion du risque, Tec & Doc, Lavoisier, Londres, Paris, New York, 1999, 121-140.

- 23. CASTAGNERO, M. 1999.** Risques cancérogènes, In : Pfohl-Leszkowicz, A (Ed) Les mycotoxines dans l'alimentation, Evaluation et gestion du risque : Tec & Doc, Lavoisier, Londres, Paris, New York, 1999, 121-140.
- 24. Castegnaro, M., Pfohl-Leszkowicz, A. 2002.** Les mycotoxines: contaminants omniprésents dans l'alimentaire animale et humaine, dans la sécurité alimentaire du consommateur, Lavoisier, Tec & Doc.
- 25. CREPPY (E.E.), BAUDRIMONT (I.) et BETBEDER (M.)** - Prevention of nephrotoxicity of ochratoxin A, a food contaminant. Toxicology Letters, volumes 82-83,1995 ; 869-877
- 26. D'Mello & McDonald,A.M.C.1997. D'Mello & McDonald,A.M.C.1997.** Mycotoxine.Animal Feed Science Technology . 69,155-166.
- 27. de S NAJIH - 2008**
- 28 .Dictionnaire Reverso** Dictionnaire encyclopédique des soins infirmier.  
En ligne < [http://www. .Dictionnaire .Reverso.com](http://www.Dictionnaire.Reverso.com) consulté le 22avril2017
- 28. . dictionnaire.doctissimo dictionnaire.doctissimo**  
*En ligne < [http :<www.dictionnaire.doctissimo.fr/definition-nephrotoxique.htm](http://www.dictionnaire.doctissimo.fr/definition-nephrotoxique.htm)*  
*Consulté le 22avril2017*
- 29. Diener, U. L., Davis, N. D. 1967.** Limiting temperature and relative humidity for growth and production of aflatoxin and free fatty acids by *Aspergillus flavus* in sterile peanuts. Journal of American Oil Chemists Society 44, 259-263
- 30. DIENER, U. L., PETRIT, R. E. and COLE, R. 1. 1982.** Aflatoxins and other mycotoxins in peanuts. In Peanut science and technology (chap. 13). APRES, USA.
- 31. DIO, I, M. 1978.** DIO, I, M. 1978.Etude des problèmes posés par les aflatoxines dans les aliments du bétail et de l'homme. Thèse Vet. Dakar. N°12
- 32. DI PAOLO, J.A.ELIS J.ERVIN, H. 1967.** DI PAOLO, J.A.ELIS J.ERVIN, H. 1967.Teratogenic response by hamsters, rats and mice to aflatoxin B1 .1967 .Nature (Lond), 215. 638 – 639
- 33. Docteur Squinazi, Fabien. .2008** Lignes directrices applicables à l'évaluation et l'élimination d'une contamination fongique en environnement intérieur Service d'hygiène. la ville de New York .2008
- 34. Doyle, M. P. Beuchat, L. R. & Montville, T. J. 1998.** Food microbiology: Fundamentals and frontiers. ASM press. Washington D.C.

35. **Dwevidi , s, Crouch, J.H., Nigam, S.N., Ferguson, M.E., et Paterson, A,H .2003.** Molecular breeding of groundnut for enhanced productivity and food security in the semi-arid tropics: Opportunities and Challenges. Adv. in Agronomy 80, 221p.
36. **Elidemir O., Colasurdo G.N., Rossmann S.N., Fan L.L.** Isolation of *Stachybotrysen* from the lung of a child with pulmonary hemosiderosis. Pediatrics (1999) 104, 964-966.
37. **ELIS O.W. SMITH J.P. SII\IPSON B.K.OLDHAM. J.H. 1991.**Aflatoxin in food occurrence, biosynthesis effect on organjsms , Detection and methods of control Critical Rev. in Food Science and Nutrition .1991 30 (3) .403-409.
38. **Esteban A., Abarca M.L., Bragulat M.R., Cabañes F.J.** Effects of temperature and incubation time on production of ochratoxin A by black aspergilli. Research in Microbiology (2004) 155, 861-866
39. **FAO.** fiat panis. module 1.1 Les champignons présentation générale
40. **F.A.O. 1977.** Food and nutrition paper 2 mycotoxines Nairobi Sept 19-27 Food Cosmet. Toxicologie. 1979 17 159-166
41. **F.A.O / ACCT. 1978.** Seminaire sur le dosage des mycotoxines dans les aliments. Fac. de Medecine Dakar 21 Mai - Il Juin .1978.
42. **F.A.O. 1992.** Normes sur le contrôle de la qualité des produits alimentaires. Cours de fonnation sur l'analyse des mycotoxines. Etude FAO 14/10 Rome.143p
43. **Fitzgerald, J. M., Collin, R. G., Towers, N. R. 1998.** Biological control of sporidesmin- producing strains of *Pithomyces chartarum* by biocompetitive exclusion. Letters of Applied Microbiology 26 (1), 17-21
44. **FRANCOZ P. 1975**« Aflatoxines et hépatomes ».discussion à propos d'une observation chimique Thèse Med. Paris Sud. N° 32
45. **gallery/1030360/culinary-pea-pisum-sativum-from-a-masclef-atlas-des-plantes-de-france-paris-1893.**
46. **Galvano F, Piva A, Ritlen A et Galvano G (2001)** Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: A review. J Food Prot, 64 (1): 120 -131.
47. **GAUTHIER S. 1985.**« Les aflatoxines dans les aliments » .Leur toxicité, étude des méthodes de dosage et mise au point d'un programme de détoxification. Thèse Pharrn. Dakar. 1985 N°25
48. **GELDERBLOM (W.C.), MARASAS (W.F.), LEBEPE-MAZUR (S.), SWANEVELDER ,S et VESSEY ,C,J. 2002.** Interaction of fumonisin B1 and

aflatoxin B1 in a short-term carcinogenesis model in rat liver. *Toxicology*, volume 171, 2002 ; 161-173.

**49. Hammons, 1973a**

**50. Horie, Y. 1995.** Productivity of ochratoxin A of *Aspergillus carbonarius* in *Aspergillus* section *Nigri*, *Nippon Kingakukai Kaiho* 36, 73-76.

**51. HSIEH D.P.H. 1986.** «Genotoxicity of mycotoxins». In *New concepts and developments in toxicology* :edited by P.L. Chambers P. Gehring and F. Sakai .Elsevier .1986 .NY 251-259

**52. Hunter, J.H. 1969.** Growth and aflatoxin production in shelled corn by the *Aspergillus flavus* group as related to relative humidity and temperature. Ph.D. Thesis, Purdue University Diss. Abstract. 30, 1447B.

**53. HUWIG (A.), FREIMUND (S.), KAPPELI (O.) et DUTLER (H.) 2001.** - Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicology Letters*, volume 122, 2001 ; 179-188.

**54. IARC. 1971.** Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some naturally occurring substances: Some food items and constituents heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Lyon: IARC publications .1993 .Vo1 56. p362

**55. IARC. 1976.** Evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man: some naturally occurring substances. International Agency For Research on Cancer .Lyon .1976

**56. Identifying endocarp remains and exploring their use at Epipalaeolithic Öküzini in southwest Anatolia [archive],** Turquie,.2004.

**57. Jimenez, M., Mateo, J.J., Hinojo, M.J., Mateo, R. 2003.**

Sugars and amino acids as factors affecting the synthesis of fumonisins in liquid cultures by isolates of the *Gibberella fujikuroi* complex. *International Journal of Food Microbiology* 89, 185-193.

**58. Jr** Destruction of aflatoxins in peanuts during dry and oil roasting 1. *agric. food Chem.* 1969 .17. 451 – 453.

**59. Keller, S.E. Sullivan, T.M., Chirtel, S. 1997.**

Factors affecting the growth of *Fusarium proliferatum* and the production of fumonisin B1: oxygen and pH. *Industrial Microbiology, Biotechnology.* 19, 305-309

**60. Krapovickas et Gregory (1994).**

Taxonomia del género *Arachis* (Leguminosae). *Bonplandia* 8: 1-186.

**61. Kupferschmidt, K.2012.** Attack of the Clones." *Science* 337(6095): 636-638.

**62. Lacey, J. 1986.** Factors affecting mycotoxin production. In: *Mycotoxins and phycotoxins* :edited by Steyn, P.S. and Vlegaar, R.6th International IUPAC symposium on mycotoxins and phycotoxins, Pretoria, South Africa

**63. Le : 28-02-2012 markal**

**64. LEE L.S. ; CUCLLI A.F; FR.NZ A.O.Jr PONS, \V.AJr** Destruction of aflatoxins in peanuts during dry and oil roasting 1. *agric. food Chem.* 1969 .17. 451 – 453.

**65. LEONARD A.; DEKNUDT Gh: LINDEN G. 1975.**Mutagenicity tests with aflatoxins in the mouse *Mutat. Res* .1975 .28. 137 – 139

**66. Leyral et vierling.2001.** *Microbiologie et Toxicologie des aliments*. 3ème Edition. Lavoisier, Paris, France.

**67. LIOI (M.B.), SANTORO (A.), BARBIERI(R.), SALZANO (S.) et URSINI ,M,V. .** - Ochratoxin A and zearalenone: a comparative study on genotoxic effects and cell death induced in bovine lymphocytes. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, volume 557, 2004 ; 19-27

**68. Lopez-Garcia R et Park D (1999)** Systèmes de gestion intégrée des mycotoxines. 3ème conférence internationale mixte FAO / OMS / PNUE sur les mycotoxines. 3-6 Mars. Tunis, Tunisie.

**69. Lund, F., Frisvard, J.C. 2003.**

*Penicillium verrucosum* in wheat and barley indicates presence of ochratoxin A. *Journal of Applied Microbiology* 95, 1117-1123

**70. Marín, S., Magan, N., Serra, J., Ramos, A.J., Canela, R., Sanchis, V. 1999a.**

Fumonisin B1 production and growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* on maize, wheat, and barley grain. *Journal of Food Science* 64, 921-924.

**71. Meletiadis J., Meis J., Mouton J.W., Verweu PE.** Analysis of Growth Characteristics of Filamentous Fungi in Different Nutrient Media. *Journal of Clinical Microbiology* (2001) 39, 478-484.

- 72. Meyer, A., Deiana, J. & Bernard, A. 2004.**  
Cour de microbiologie générale. Doin. France.
- 73. Miller J.D. & Trenholm, H.L. 1994.** Mycotoxins in grain , compounds other than aflatoxine .Eagan press , minnesota ,USA.
- 74. Mitchell, D., Parra, R., Aldred, D., Magan N. 2004.** Water and temperature relations of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains from grapes in Europe and Israel. *Journal of Applied Microbiology* 97, 439-445.
- 75. Molina M., Giannuzzi L.** Modelling of aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* in a solid medium at different temperatures, pH and propionic acid concentrations. *Food Research International* (2002) 35, 585-594.
- 76. Molto G.A., Gonzalez H.H., Resnik S.L., Pereyra Gonzalez A.** Production of trichothecenes and zearalenone by isolates of *Fusarium spp.* from Argentinian maize. *Food Additives and Contaminants* (1997)14, 263-268.
- 77. MONJOUR, L. 1968** Les aflatoxines Aliment .Vie .1968 .N° 56 .229-249.
- 78 . monftpamwa.free.fr**
- 79. MOREAU C. 1974.** Moisissures toxiques dans l'alimentation Paris -Vie Masson et Cie 1974 471p
- 80. MOSS (M.O.). 2002.** Risk assessment for aflatoxins in foodstuffs. *International Biodeterioration and Biodegradation*, volume 50, 2002 ; 137-142.
- 81. Mugundi, J.B., Sims, C.A., et Gorget, D.W., 1998.** Flavor stability of high-oleic peanuts stored at low humidity. *J Am Oil Chem Soc.* 75: 21-25.
- 82. Olsen, M., Jonsson, N., Magan, N., Banks, J., Fanelli, C., Rizzo, A., Haikar, A., Dobson, A, Frisvad, J. Holmes, S. Olkku, J. Persson, S.J. Börjesson, T. 2003.**  
Prevention of Ochratoxin in Cereals. OTA PREV. Final report. Quality of Life and Management of Living Resources. Project No. QLK1-CT-1999-00433.
- 83. OMS. 1980.** Résumé de mycotoxines Critères d'Hygiène et de l'Environnement .Genève .1980. n° II .142p
- 84. ONG T.M. 1975** Aflatoxins mutagenesi *Mutat. Res* 1975 32. 35 – 53
- 85 .OSWALD ,I.P. 2000** Mycotoxines et immunotoxicité. *Association pour la Recherche en Toxicologie, Actualités* 2000, numéro de décembre ; 32-34.

- 86. Park DL (1993)** Perspectives on mycotoxin decontamination procedures. Food Add contam, 10: 49-60.
- 87. Paterson, R. R. M.2006.** "Fungi and fungal toxins as weapons." Mycological research 110(9): 1003-1010.
- 88. Pattee et Young, 1982**
- 89. PERDRIX A.MADON, N.MAITRE, A.PARAT, S. MANN, S.CLAVEL, T. 1997.**Risques biologiques autres qu'infectieux. Encycl. Med. Chir. (Elsevier, Paris) Toxicologie - Pathologie professionnelle, 16-080- B-10 1997, 6p.
- Pfohl-Leszkowicz, A. 1999.**  
Métabolisation des mycotoxines- Effets biologiques et pathologies- Ecotoxicogénèse. Dans « Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque » de Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. Technique et Documentation, Paris, pp. 18- 35.
- 90. Pfohl-Leszkowicz, A. 2001.**  
Définition et origines des mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque, Ed : Tec & Doc, 3-14.
- 91. Pierre GALTIER(1),Nicolas LOISEAU, Isabelle Paule OSWALD et Olivier PUEL . 2005 .**« Toxicologie des mycotoxines : dangers et risques en alimentation humaine et animale » (novembre 2005) , p. 1
- 92. Ramos, A.J., N. Labernia, S. Marín, V. Sanchis, N. Magan. 1998.**  
Effect of water activity and temperature on growth and ochratoxine production by three strains of *Aspergillus ochraceus* on a barley extract medium and on barley grains. International Journal of Food Microbiology. 44, 133-140
- 93. Reboux G.** Mycotoxins: health effects and relationship to other organic compounds. Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique (2006) 46, 208-212.
- 94. REGLEMENT (CE) n° 1425/2003** de la Commission du 11 août 2003 modifiant le règlement (CE) n° 466/2001 en ce qui concerne la patuline.
- 95. REGLEMENT(CE) n° 472/2002** de la Commission du 12 mars 2002 modifiant le règlement (CE) n° 466/2001 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires.
- 96. REGLEMENT (CE) n° 455/2004** de la Commission du 11 mars 2004 modifiant le règlement (CE) n° 466/2001 en ce qui concerne la patuline

- 97. REGLEMENT(CE) n° 472/2002.** de la Commission du 12 mars 2002 modifiant le règlement (CE) n° 466/2001 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires
- 98. RICHARD, J. L. and LYON, R. L. 1986.** Aflatoxins and their detection in animal tissues and fluids. *J. Toxicol.* 5 : 197-215.
- 99. Roquebert M.-F.** Les moisissures, nature biologie et contamination (1997)
- 100.santé – médecine. Net adhère aux principes de la charte « health on the Net »** (honcode destinée au site web médicaux et de la santé juin 2014 )
- 101.SCHADE Y.E. 1975** Incidence of aflatoxin in California. *American Society Microbiol*29(1) 48-53
- 102.SCHMIDT, F. R. and ESSER, K. 1985.** Aflatoxins : medical, economic impact, and prospects for control. *Proc. Biochem.* 167-174.
- 103.Scudamore & Livesey, 1998**
- 104.SHANK R. C.VOGAN G.N. 1965.** *Fed proc.* 1965. 627.
- 105.SOHER ,E et MONA,M.2004.** Technology in the removal of aflatoxin B1 and fumonisin B1 from malt extract. *Food and Chemical Toxicology*, volume 42, 2004 ; 1825-1831.
- 106.Sommer N.F., Buchanan J.R., Fortlage R.J.** Production of Patulin by *Penicillium expansum*. *Applied Microbiology* (1974) 28, 589-593.
- 107.SORENSEN .V.G. 1990.**« Mycotoxins as potential occupational hazards » .In *Developments in industrial microbiology .J Ind Microbio* 1 .1990: 31 (suppl 5) .205 - 21 1
- 108.Tabuc C.** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de l'Institut National de Polytechnique de Toulouse et de l'Université de Bucarest (2007).
- 109.Troller, J.A. 1980.**  
Influence of water activity on microorganisms in foods. *Food Technology* 34 (5), 76.
- 110.UNTERMANN,F. 1998.**« Microbial hazards in food ». *Food Control*, volume 9, ; 119-126.
- 111.VALTKING A.E. 1971.**Décontamination et récupération de produits exempt d'aflatoxines à partir de substances contaminées 1. *AOAC* .1971 .54 533
- 112.Van der Merwe, K.J. Steyn, P.S, Fourie, L. 1965.**

Mycotoxins, Part II. The constitution of ochratoxins A, B and C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* wilh. *Journal of chemical Society* 5, 7083-7088

**113.VRABCHEVA (T.), USLEBER (E.), DIETRICH (R.), et MARTLBAUER (E) . 2000.**Co-occurrence of ochratoxin A and citrinin in cereals from Bulgarian villages with a history of Balkan endemic nephropathy, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 2000 ; 2483-2488.

**114.WANGICAR (P.B.), DWIVEDI (P.), SINHA (N.), SHARMA (A.K.) et TELANG (A.G.). 2005.** - Effects of aflatoxin B1 on embryo fetal development in rabbits. *Food and Chemical Toxicology*, volume 43.607-615.

# Annexes

## 1. composition des milieux de culture :

Plusieurs milieux de culture ont été utilisés pour l'isolement et l'identification des champignons.

\*Milieu PDA (potatose dextrose agar) :

La gélose dextrosée à la pomme de terre (en abrégé « PDA », pour *Potato dextrose agar*) est un milieu de culture microbiologique courant produit à base d'infusion de pomme de terre et de dextrose. Milieu organique.

- **Pomme de terre (macération 500ml de filtrat).....200g**
- **Sucrose.....10g**
- **Agar.....15g**
- **ED.....1000ml**

\*Milieu CDA (czapeks dextrose agar) :

- **Sucrose.....30g**
- **KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> .....1g**
- **NaNO<sub>3</sub>.....3g**
- **Kcl.....0.5g**
- **MgSO<sub>4</sub>.....0.5g**
- **FeSO<sub>4</sub>.....0.1g**
- **Agar.....15g**
- **ED.....1000ml**

\* Milieu MEA (malt extract agar) :

L'extrait de malt Agar, basé sur la formule recommandée par Thom et Church, est conçu pour contenir la formulation appropriée des sources de carbone, de protéines et de nutriments essentielles à la levure et à la croissance des moisissures. (7) Le dextrose est ajouté au milieu pour fournir un carbone et de l'énergie Source de champignons. De plus, l'extrait d'extrait de malt contient des diges de tissus d'animaux (peptones) qui fournissent une source nutritive d'acides aminés et de composés azotés pour la croissance de moisissures et de levures. Le pH est ajusté à environ 5,5 afin d'améliorer la croissance des champignons et d'inhiber légèrement la croissance bactérienne couramment considérée comme des contaminants environnementaux. (6)

6. Ajello, et al. 1963. *CDC Laboratory Manual for Medical Mycology*, PHS Publication No. 994. U.S. Gov't Printing Office, Washington, D.C.

7. Thom, C. and M.B. Church. 1926. *The aspergilli*. Williams & Wilkins Co., Baltimore, MD.

8. U.S. Environmental Protection Agency. 2002. "A brief guide to mold, moisture, and your home." Internet: [www.epa.gov/iaq/molds/moldguide.html](http://www.epa.gov/iaq/molds/moldguide.html)

- **Gélose de malt.....45g**
- **ED.....1000ml**

\*CYA (Czapek Yeast Agar) :

Le milieu CYA a été utilisé pour la croissance et l'identification des champignons appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*. De plus, ce milieu a aussi été utilisé dans le test de production d'OTA et d'AFB1 (milieu optimal pour la production des mycotoxines) ainsi que pour la conservation des moisissures (+ 4°C) en attente du stockage dans le glycérol.

- **Czapek concentré.....10ml**
- **KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.....1g**
- **Extrait de levure.....5g**
- **Sucrose.....30g**
- **Agar.....15g**
- **ED.....100ml**

\* L'agar AFPA (*Aspergillus flavus* et *parasiticus* Agar) :

est utilisé pour identifier les *Aspergillus flavus* et *A. parasiticus*. Dans ce milieu, ces souches produisent une couleur jaune orangé apparente à l'envers de la colonie.

- Peptone bactériologique.....10g
- Extrait de levure.....20g
- Citrate de fer ammoniacal.....0.5g
- Chloromphenicol.....100g
- Dichloron.....2mg
- Agar.....15g
- ED.....1000ml

\* milieu yes (yest extract agar) :

- Sucrose.....40g
- Extrait de levure.....20g
- ED.....1000ml

\*milieu czapek concentré :

- NaNO<sub>3</sub>.....30g
- Kcl.....5g
- MgSO<sub>4</sub>.....5g
- FeSO<sub>4</sub>.....0.1g
- ED.....1000ml

\*milieu GN25 :

- **KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.....0.75g**
- **Czapek concentré.....7.5ml**
- **Extrait de levure.....3.7g**
- **Glycérol.....250ml**
- **Agar.....12g**
- **ED.....750ml**

\*Eau physiologique :

- **Nacl.....9g**
- **ED.....1000ml**

**Annexe** : valeurs moyennes des différentes souches fongiques apparus dans les amandes.

<b>Résultat d'ulster trouvée Des grains d'amandes</b>	<b>Pourcentage</b>
<b>Mycoral</b>	<b>60</b>
<b>Couleur Vert M</b>	<b>5</b>
<b>Couleur Blanc</b>	<b>20</b>
<b>Couleur Noir</b>	<b>10</b>
<b>Levure</b>	<b>5</b>

**Annexe** : valeurs moyennes des différentes souches fongiques apparus dans les arachide

<b>Résultat d'ulster trouvée Des grains d'arachide</b>	<b>Pourcentage</b>
<b>Mycoral</b>	<b>72</b>
<b>Couleur vert pistache</b>	<b>14</b>
<b>Couleur blanche</b>	<b>4</b>
<b>Noire</b>	<b>4</b>
<b>Levure</b>	<b>0.5</b>

## Annexe : sondage des fruits a coque

Arachachide non décortiqué	300
Arachide décortiqué	400
Amande non décortiqué	50
Amande décortiqué	150
Pistache	120
Noix non décortiqué	20
Noix décortiqué	25
Noisette	28
Châtaignes	10
Noix de cajou	12

Annexe : valeur moyenne de la mycoflore totale ainsi que les différentes souches fongiques apparues sur PDAac ( $\times 10^2$ UF)

Fruit à coque	ARACHIDES			AMANDES		
	AR1	AR2	AR3	AM1	AM2	AM3
<b>Mycoflore totale</b>	4.5	3.5	1	2.5	3.5	2
<i>A.niger</i>	1	1.25	0.25	2	1	0.5
<i>Rhisopus</i>	0	0	1	1	0	0.75
<i>Penicillium</i>	0.5	0	0	0.5	0	0
<i>Aspegillus flavus parasiticus</i>	1	0.25	0.25	1	0.5	1
<i>Aspergillus spp</i>	0.5	0	0	0.5	0	0
<b>Mucorales</b>	0	++	+	+	+	+

## Résumé

Nos aliments peuvent parfois présenter des risques sanitaires si les conditions de culture, d'élevage de fabrication de commercialisation de conservation sont mauvaises.

Dans ce cadre s'inscrit le problème de nuisances occasionnées par le développement dans les denrées alimentaires.

Les arachide et les amande sont des fruits à coque oléagineuses qui constituent un substrat préférable pour les moisissures qui peuvent provoquer une altération technologique et sanitaire induisant un risque accru de contamination croisée par les mycotoxines, leur danger toxique et cancérigènes pour l'homme et animal

A cet effet, l'objectif de ce travail s'inscrit dans le cadre de problématique de mycotoxine débutant par une analyse mycologique: isolement et purification de la mycoflore dans les arachide et amandes avec ces différentes catégories commercialisées avec coque, décortiquée, et sans enveloppe par deux méthodes: Ulster et la méthode classique de dilution.

Il ressort de ces travaux la dominance des genres *Aspergillus*, *Penicillium* et mucorales qui témoignent les mauvaises conditions de stockage et commercialisation.

Les souches ainsi identifiées sont,

5 *Aspergillus*: *A.parasiticus* *A.ochraceus* *A.tamarisii* *A.niger* *A.terreus* *A.fumigatus*.

4 *penicillium*: *P.hispanium* *p.italicum* *p.verrucosum* *p.expansum*.

Les souches toxigènes sont *A.flavus parasiticus* sécrétrice d'aflatoxine et *A.ochraceus* sécrétrice d'ochratoxines

**Mots clé** : fruit à coque ; moisissure ; mycotoxine : genre ; espèce

ملخص

في بعض الأحيان يحتوي طعامنا على مخاطر صحية أدا كانت شروط التخزين و الحفظ سيئة و في هذا السياق نسجل مشكلة وفي هذا السياق يناسب مشكلة التلوث الناجم عن التخمير في الغذاء الفول السوداني اللوز هم فاكهة البدين التي تمثل الركيزة المفضلة و المسبب للتغيير التكنولوجي و الصحي الذي يحفز على زيادة خطر انتقال التلوث عن طريق السموم الفطرية التي تمثل مخاطر سامة و متسرطنة على صحة الإنسان و الحيوان الهدف من هذا العمل يتم ضمن إطار مشاكل السموم الفطرية المبتدئة و هذا عن طريق تحليل الفطريات: عزل و تنقية الميكوفلور الفطري في الفول السوداني و اللوز و هذا يتم بفضل طريقتين: طريقة الاسترة و طريقة التخفيف الكلاسيكية استخلصنا من هذا العمل هيمنة أنواع *Aspergillus*, *penicillium*, *mucoral* وهذا يؤكد على ظروف التخزين و التسويق السيئة يتم تحديد السلالات الناتجة عن ذلك 5 *Aspergillus*: *A.parasiticus* *A.ochraceus* *A.tamarisii* *A.niger* *A.terreus* *A. 4 penicilliums*: *P.hispanium* *p.italicum* *p.verrucosum* *p.expansum*.  
: *A.flavus parasiticus* sécrétrice d'aflatoxine et *A.ochraceus* sécrétrice هي السلالات السامة هي d'ochratoxines

**كلمات البحث**: الثمرة قديفة. العفن. السموم الفطرية: بين الجنسين؛ نوع

Abstract

The present study focused on the study of the mycological quality of samples of peanuts and almonds marketed in the Algerian Republic

50 peanut samples and 50 samples of almonds were taken from different wholesalers in the town of Tlemcen

The mycological study by two methods:

From ulster and the dilution method showed a large number of fungal contaminants.

After microscopic identification, the single spore method was used to disclose the main toxinogenic strain incriminated in the production of mycotoxin.

The identification strains are *A.flavus* *A. spp* *A.niger* for peanuts and *Alterneria*, *Penicillium. spp* *A.niger* for almonds.

**Keywords**: fruit a shell; Mold; Mycotoxin: genus; species