

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



مخبر الميكروبيولوجيا التطبيقية للأغذية البيوطبي والبيئة
LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE APPLIQUEE A L'AGROALIMENTAIRE, AU BIOMEDICAL ET A L'ENVIRONNEMENT



Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'agroalimentaire au biomédicale et à L'environnement

(LAMAABE)

Mémoire

Pour l'obtention du diplôme de

Magister

Option :

Maîtrise de la qualité microbiologique et du développement microbien

Identification des Espèces de Moisissures Toxinogène dans l'Alimentation du Bétail et Détection des Aflatoxines et l'Ochratoxine A

Présenté par : Mr. Gadi Omar

Membres de jury :

Mr. MOUSSA BOUDJEMAA. B	Professeur	Président	Université de Tlemcen
Mr. ABDELOUAHID. D.E	Professeur	Examineur	Université de Tlemcen
Mr. BENDAHOU. M	Maître de conférences A	Examineur	Université de Tlemcen
Mr. MOUSSAOUL. A	Professeur	Promoteur	Université de Béchar

Année Universitaire : 2011-2012

REMERCIEMENTS

Louange à Dieu, le Miséricordieux, le compatissant. Paix et Salut sur notre Prophète Mohammed.

Je tiens tout d'abord à adresser mes vifs remerciements au **Pr. MOUSSAOUI Abdallah**, directeur de *Laboratoire de valorisation des ressources végétales et sécurité alimentaire des zones semi aride sud ouest algérien* à UB, et la prie de trouver, ici, l'expression de ma reconnaissance et ma sympathie, pour l'assistance et le dévouement sans faille dont il a toujours fait preuve à mon égard et qui m'a permis d'élaborer le présent mémoire.

Je remercie le **Pr. MOUSSA BOUDJEMAA. Boumediene**, directeur de *Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE)* à UABT de m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury.

Je prie Monsieur **ABDELOUAHID. Djamel Eddine**, Professeur à l'UABT de trouver, ici, l'expression de ma considération et de ma sympathie pour avoir accepté d'être membre du jury.

Je remercie Monsieur **BENDAHOU. Mourad**, Maître de Conférences de Classe A à l'UABT, de m'avoir fait l'honneur d'accepter être membre du jury.

Il m'est agréable de remercier **Mr AMROUCHE. A**, chargé de cours à l'Universitaire De Béchar, ainsi que toute l'équipe de recherche pour la bonne accueil au sein du *Laboratoire de valorisation des ressources végétales et sécurité alimentaire des zones semi aride sud ouest algérien* à UB.

Mes remerciements, seront également adressés à **Melle BENAHMED Meryem**, doctorante à LAMAABE, pour sa disponibilité, les conseils qu'elle n'a jamais cessé de me prodiguer et l'abnégation sans faille qu'elle a déployée pour la finalisation de ce travail.

Je tiens à remercier tout particulièrement **Mr GACEM. K, Mr ZAOUI, Mr EL AIDE. Y, et Mr GUEBLI**, responsables des unités de fabrication de l'alimentation des animaux pour ces accueils qui m'a réservé au sein de ces établissements.

Omar GADI

Résumé

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires sécrétés par des moisissures appartenant principalement aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Les mycotoxines ont des structures chimiques et des effets toxiques très variés. Chez les animaux d'élevage, l'exposition aux mycotoxines peut se traduire par une baisse des performances zootechniques et l'altération de la santé animale. A cela, il faut ajouter un problème de sécurité alimentaire suite au passage de certaines mycotoxines et/ou de leurs métabolites dans les productions animales, notamment le lait. Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est d'isoler et déterminer la flore fongique dans trente deux échantillons d'alimentation du bétail (aliment composé et la matière première: grains de maïs, tourteaux de soja, son de blé); identifier des espèces toxigènes du genre *Aspergillus* et genre *Penicillium*; chercher la présence des aflatoxines et l'ochratoxine A dans les substrats étudiées et finalement tester la capacité des souches d'*A.flavus* et *A.parasiticus* de produire des mycotoxines (aflatoxine B₁ et aflatoxine G₁). L'analyse des prélèvements fait l'objet de deux techniques, la méthode directe et la méthode de dilution. La recherche des mycotoxines faite par la technique CCM.

L'analyse mycologique révèle à une nette dominance des genres *Aspergillus* (53,23%), *Penicillium* (25,74%), *Rhizopus* (07,62%), ces genres sont la preuve de contamination des denrées maltraités, mais surtout mal conservés, et sont considéré comme des contaminants de stockage. L'association des genres *Fusarium* (05,07%), *Alternaria* (03,33%), *Cladosporium* (00,67%) a été aussi révélée. Du genre *Aspergillus*, sept espèces ont été identifiées (*A.flavus*, *A.parasiticus*, *A.ochraceus*, *A.fumigatus*, *A.clavatus*, *A.terreus*, *A.niger*) dont *Aspergillus flavus* était la plus fréquente (57,69%), alors que six espèces ont été identifiées du genre *penicillium* (*Penicillium aurantiogriseu*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium crustosum*, *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium rugulosum*, *Penicillium verruculosum*). L'analyse mycotoxicogénique montre que (83,33%) des isolats d'*A.flavus* et *A.parasiticus* testées sont productrice d'aflatoxines et que les échantillons de maïs sont contaminés par l'aflatoxine B₁, et l'ochratoxine A. La recherche des aflatoxines et de l'ochratoxine A sur les autres substrats s'est révélée négative, mais n'exclue pas toute suspicion de toxicité.

Mots-clés : Relizane, moisissures toxigène, alimentation du bétail, aflatoxine, ochratoxine A.

Abstract

Mycotoxins are secondary metabolites secreted by molds belonging mainly to the genera *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*. Mycotoxins have a wide variety chemical structures and toxic effects. For the farm animals , exposure to mycotoxins can cause a lower animal performance. To this, add the probleme of food safety, following the passage of certain mycotoxins and / or their metabolites in animal products, especially milk. In this context, the objective of this work is designed for the isolation and characterization of fungal flora with detection of aflatoxins and ochratoxin A in thirty-two samples of cattle feed (mixed feed and raw materils: corn, soybean meal, wheat bran), and to identify toxigenic species of *Aspergillus* and *Penicillium* and test their ability to produce mycotoxins (aflatoxin B1 and aflatoxin G1). The analysis of the mycoflora of samples is subject to both techniques, the direct plating (blloter test) and the dilution plating. Mycotoxins research made by the TLC technique.

The most dominant species isolated of animal feed samples belonged to the genera *Aspergillus* (53,23%), *Penicillium* (25,74 %), *Rhizopus* (07,62), *Fusarium* (05,07%), *Alternaria* (03,33), *Cladosporium* (00,67%). From *Aspergillus* genus, seven species were identified (*A.flavus*, *A.parasiticus*, *A.ochraceus*, *A.fumigatus*, *A.clavatus*, *A.terreus*, *A.niger*) and *Aspergillus flavus* was the most frequent (57,69 %). While six species were identified from the genus *Penicillium* (*Penicillium aurantiogriseu*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium crustosum*, *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium rugulosum*, *Penicillium verruculosum*). The mycotoxicology analysis shows that 83.33% of strains of *A. flavus* and *A.parasiticus* tested were aflatoxins producer. Thus, the maize samples were found contaminated with aflatoxin B1, and ochratoxin A. the search for aflatoxins and ochratoxin A on the other substrates was negative, but does not exclude any suspicion of toxicity.

Keys-words : Relizane, molds, mycotoxins, feed, aflatoxin, ochratoxin A.

ملخص

السموم الفطرية هي مركبات ثانوية تفرزها فطريات تنتمي أساسا إلى أجناس البنسليوم، الأسبرجيليس وفيوزاريوم. تمتلك هذه السموم تراكيب كيميائية و آثار سمية متعددة جدا. إن تعرض حيوانات المزارع لهذه السموم يؤدي إلى تدهور صحتها و إنخفاض في الإنتاج. إضافة إلى هذا يمثل مرور هذه السموم إلى المواد الغذائية ذات الأصل الحيواني خطرا على صحة الإنسان. و في هذا السياق، كان الهدف من هذا العمل عزل وتوصيف الفطريات مع الكشف عن الأفلاتوكسين والأوكراتوكسين في 32 عينة من علف الماشية (خليط العلف والمكونات الأولى: الذرة، وجبة فول الصويا، نخالة القمح)، وتحديد نوع الفطريات الأسبرجيليس والبنسليوم مع اختبار قدرتها على إنتاج السموم الفطرية (الأفلاتوكسين B1 و G1). لقد تم تحليل العينات بإستعمال طريقة الورق النشاف، وطريقة التخفيف، أما البحث عن سموم الفطريات فقد تم بواسطة الفصل الكروماتوجرافي على الطبقة الرقيقة.

تبين من خلال النتائج المتحصل عليها سيادة كل من الأجناس التالية : *Aspergillus* (53,23%) , *Alternaria* (03,33) , *Fusarium* (05,07%), *Rhizopus* (07,62), *Penicillium* (25,74 %) *Cladosporium* (00,67%). ولقد تم تشخيص سبعة أنواع من الفطريات من جنس *Aspergillus* (*A.flavus*, *A.parasiticus*, *A.ochraceus*, *A.fumigatus*, *A.clavatus*, *A.terreus*, *A.niger*) حيث أن أعلى نسبة كانت لنوع *Aspergillus flavus* (57,69 %). بينما تم تشخيص ستة أنواع من جنس *Penicillium* : *Penicillium aurantiogriseu*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium crustosum*, *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium rugulosum*, *Penicillium verruculosum*). ولقد بينت التحاليل أن 83,33% من عزلات *Aspergillus flavus* كانت منتجة لسموم الأفلاتوكسين حسب طريقة الفصل الكروماتوجرافي على الطبقة الرقيقة. كما تبين أيضا أن عينات الذرة كانت ملوثة بسموم الأفلاتوكسين و الأوكراتوكسين. إن البحث عن السموم الفطرية في الأعلاف الأخرى أعطى نتائج سلبية و لكن هذا لا يستثني كل احتمال لوجود هذه المواد السامة.

الكلمات المفتاحية : غليزان، فطريات ، علف الماشية ، السموم الفطرية ، الأفلاتوكسين ، الأوكراتوكسين.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	
RÉSUMÉ	
TABLE DES MATIÈRES	
LISTE DES FIGURES, ET TABLEAUX	
LA LISTE DES ABRÉVIATIONS	
INTRODUCTION	01

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : L'alimentation du bétail en Algérie.

1. Le secteur de l'élevage en Algérie.....	02
2. Les ressources fourragères	02
3. Importation d'aliment du bétail.....	04
4. Valorisation des sous produits en Algérie.....	04
4.1. Les sous produits céréaliers	05
4.2. Les sous produits de l'olivier.....	05
4.3. Les sous produits du palmier dattier	05
5. La qualité de l'alimentation du bétail	05

CHAPITRE 2 : Les mycotoxines dans l'alimentation du bétail.

1. Origine des mycotoxines.....	07
2. Bioconversion des mycotoxines chez le ruminant.....	07
2.1. Dans le rumen	08
2.2. Dans l'intestin, le foie et les reins	09
3. Voies d'élimination des mycotoxines	11
3.1. Excrétion urinaire et fécale	11
3.2. Excrétion dans le lait.....	11
3.2.1. La stabilité dans les produits laitiers	12
3.3. Dans les viandes.....	12
4. L'exposition de l'homme	12
5. Effets des mycotoxines sur la santé des ruminants	13
5.1. Les aflatoxicoses	13
5.2. Les ochratoxicoses	14
5.3. Zéaralénone	14
5.4. Les trichothécènes.....	14
5.5. Patuline.....	15
6. Les conséquences économiques.....	15
7. Prévention du risque mycotoxicologique.....	15
7.1. Contrôle du développement des moisissures	15
7.2. Recherche systématique d'une contamination	16
7.3. Décontamination des produits laitiers.....	16
7.4. Traitements limitant les effets des mycotoxines	17
7.4.1. Méthodes physiques	17
7.4.2. Méthodes chimiques	17
7.4.3. Méthodes microbiologiques	17
7.5. Le système HACCP	18

PARTIE EXPÉRIMENTALE

I. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Prélèvements des échantillons	20
1.1. La région étudiée.....	20
1.2. Nature des prélèvements effectués.....	20
1.2.1. La matière première	20
1.2.2. L'aliment composé.....	20
1.3. Techniques d'échantillonnage.....	20
2. Analyses physico-chimiques.....	22
2.1. Détermination du taux d'humidité relative	22
2.2. Détermination du pH.....	22
3. Analyse mycologique.....	23
3.1. Méthode du buvard et Méthode du buvard modifiée	23
3.2. Méthode de dilution	24
4. Identification des moisissures	25
4.1. Identification des genres	25
4.2. Identification des espèces du genre <i>Aspergillus</i> et <i>Penicillium</i>	26
4.2.1. Identification des espèces d' <i>Aspergillus</i>	26
4.2.2. Identification des espèces de <i>Penicillium</i>	26
5. Analyses mycotoxique	27
5.1. Recherche des souches productrices d'aflatoxines	27
5.1.1. Ensemencement sur milieu Y.E.S.....	27
5.1.2. Analyse par la chromatographie sur couche mince (C.C.M).....	27
5.1.2.1. Extraction des aflatoxines	27
5.1.2.2. Séparation chromatographique	29
5.2. Détection des aflatoxines au niveau du substrat	29
5.2.1. Extraction des aflatoxines et des ochratoxines	29
5.2.2. Séparation chromatographique	29
6. Analyses statistiques	31

II. RÉSULTATS ET STATISTIQUES

1. Analyses physicochimiques	32
1.1. Humidité relative.....	32
1.2. Le pH.....	32
3. Résultats de la méthode du buvard et méthode du buvard modifiée	33
2.1. Taux de germination	33
2.2. Taux de contamination.....	34
2.3. La fréquence d'isolement des genres	34
2.3.1. La fréquence d'isolement des genres par la méthode du buvard	34
2.3.2. La fréquence d'isolement des genres par la méthode du buvard modifiée.....	35
3. Résultats de la méthode de dilution	36
3.1. Le maïs.....	36
3.2. Tourteaux de soja	38
3.3. Son.....	39
3.4. Aliment composé	41
3.5. Test de Régression	42
4. L'identification des espèces du genre <i>Aspergillus</i> et genre <i>Penicillium</i>	44
4.1. Identification les espèces du genre <i>Aspergillus</i>	44
4.2. Identification les espèces du genre <i>Penicillium</i>	47
5. Analyses mycotoxiques.....	49
5.1. Les souches productrices d'aflatoxines.....	49

5.2. La détection des aflatoxines et de l'ochratoxine A au niveau des substrats	49
III. DISCUSSION	51
IV. CONCLUION	56
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	57
ANNEXES	

La liste des figures

Figure 2.1: Métabolisme de l'aflatoxine B1 dans le foie	10
Figure 3.1: Type d'inoculation des différents isolats d' <i>Aspergillus</i>	26
Figure 3.2: Type d'inoculation des différents isolats de <i>Penicillium</i>	27
Figure 3.3: les étapes analytiques de la recherche des souches d' <i>A.flavus</i> et <i>A.parasiticus</i> productrices d'aflatoxines	28
Figure 3.4 : les étapes analytiques de la détection des aflatoxines au niveau du substrat	30
Figure 4.1 : Taux d'humidité relative des différents échantillons de maïs, tourteaux de soja, son, et Aliment composé exprimé en pourcentage	32
Figure 4.2 : le pH de différents échantillons de maïs, tourteaux de soja, son, et l'aliment composé des bétails	33
Figure 4.3 : Taux de germination des échantillons de maïs analysés par la méthode du buvard et méthode du buvard modifiée exprimé en pourcentage	33
Figure 4.4 : Taux de contamination des échantillons de maïs analysés par la méthode du buvard et méthode du buvard modifiée exprimé en pourcentage	34
Figure 4.5 : Fréquence d'isolement des genres <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Fusarium</i> , et <i>Rhizopus</i> dans les échantillons de maïs analysé par la méthode du buvard.....	34
Figure 4.6 : La densité relative des genres <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Fusarium</i> , et <i>Rhizopus</i> dans les échantillons de maïs analysé par la méthode du buvard	35
Figure 4.7 : Fréquence d'isolement des genres <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Fusarium</i> , et <i>Rhizopus</i> dans les échantillons de maïs analysé par la méthode du buvard modifiée	35
Figure 4.8: La densité relative des genres <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Fusarium</i> , et <i>Rhizopus</i> dans les échantillons de maïs analysé par la méthode du buvard modifiée	36
Figure 4.9 : La fréquence d'isolement de moisissures à partir des échantillons du Maïs.....	37
Figure 4.10: Les paramètres calculés pour l'analyse mycologique du Maïs par la méthode de dilution	37
Figure 4.11: La fréquence d'isolement de moisissures à partir des échantillons du Tourteaux de soja.....	38
Figure 4.12: Les paramètres calculés pour l'analyse mycologique du Tourteaux de soja par la méthode de dilution.....	39
Figure 4.13 : La fréquence d'isolement de moisissures à partir des échantillons d'aliment composé	40
Figure 4.14: Les paramètres calculés pour l'analyse mycologique du Son par la méthode de dilution	40
Figure 4.15 : La fréquence d'isolement de moisissures à partir des échantillons d'aliment composé ; différence significative	41
Figure 4.16: Les paramètres calculés pour l'analyse mycologique de l'aliment composé par la méthode de dilution.....	42
Figure 4.17 : Comparaison des taux de moisissures réel et estimés suivant la loi d'ajustement calculé par le modèle de régression linéaire multiple	43
Figure 4.18: Espèces du genre <i>Aspergillus</i> sur les milieux standards d'identification.....	45
Figure 4.19 : Espèces du genre <i>Aspergillus</i> sur les milieux standards d'identification au 07 jours	46
Figure 4.20 : Espèces du genre <i>penicillium</i> sur les milieux standards d'identification au 14 jours	48
Figure 4.21: Les plaques de la chromatographie sur couche mince visualisées sous la lumière..	50

La liste des tableaux

Tableau 1.1 : Evolution du cheptel algérien durant les années (1996 -2006).....	02
Tableau 1.2 : Les ressources fourragères en Algérie	03
Tableau 1.3 : Evolution des importations d'aliments du bétail en Algérie.....	04
Tableau 2.1 : Pathologies chroniques humaines associées à la contamination alimentaire par les Aflatoxines et les Ochratoxines	13
Tableau 2.2 : Propriétés des principales mycotoxines contaminant les aliments des ruminants ..	
Tableau 3.1 : Dates des prélèvements, poids et origine des échantillons de la matière première pour l'alimentation du bétail prélevés au niveau de la wilaya de Relizane	21
Tableau 4.1 : les principaux critères morphologiques des <i>Aspergillus</i> sur les milieux standards utilisés pour l'identification des espèces.....	44
Tableau 4.2 : les principaux critères morphologiques des <i>Penicillium</i> sur les milieux standards utilisés pour l'identification des espèces.....	47
Tableau 4.3 : les pourcentages des souches d' <i>Aspergillus flavus</i> et <i>Aspergillus parasiticus</i> productrices et non productrices d'aflatoxine B1 et aflatoxine G1	49

LISTE DES ABREVIATIONS

A	: <i>Aspergillus</i> .
AF	: Aflatoxines.
AFB1	: Aflatoxine B1 .
AFG1	: Aflatoxine G1 .
AFM1	: Aflatoxine M1 .
AFSSA	: Agence française de la sécurité sanitaire des aliments.
Aw	: Activité de l'eau.
C°	: Degré celsius.
C.C.M	: Chromatographie sur couche mince.
CDA	: Milieu Czapek Dox Agar.
CYA	: Milieu au Czapek Yeast Agar.
g	: Grammes.
G25N	: Milieu a 25% glycérol et nitrate.
HR	: Humidité relative.
MEA	: Milieu Malt Extract Agar .
min	: Minutes.
ml	: Millilitres.
nm	: Nanomètres.
OMS	: Organisation mondiale de santé.
P	: <i>Penicillium</i> .
PDA	: Milieu Potatoes Dextrose Agar.
PDAac	: Milieu Potatoes Dextrose Agar acidifié.
pH	: Potentiel d'hydrogène.
r	: Coefficient de corrélation.
T°	: Température.
S	: L'écartype.
UF/g	: Unité Fongique/g.
U.V	: Ultra violet.
V	: Volume.
µg	: Microgrammes.
µl	: Microlitres.

Les maladies animales d'origine alimentaire constituent à l'heure actuelle l'un des problèmes les plus répandus à l'échelle internationale. Leurs répercussions sur la santé animale et sur l'économie sont de plus en plus largement reconnues. Ces maladies sont causées par divers agents en particulier les microorganismes pathogènes. En plus des virus et des bactéries pathogènes, les champignons toxigènes constituent un danger réel pour la santé animal par la sécrétion de substances hautement toxiques (mycotoxines) au cours de leur prolifération (Pavel, 2010).

Les mycotoxines sont définies comme des substances d'origine fongique capables à faibles concentrations d'induire un effet toxique (Reboux, 2006). Le contact avec les mycotoxines peut être à l'origine de toxicités chroniques et aiguës allant de la mort à des effets délétères sur le système nerveux central, l'appareil cardiovasculaire et l'appareil respiratoire, ainsi que sur l'appareil digestif chez l'homme ou l'animal (Dao, 2005). Le risque carcinogène est beaucoup étudié, mais les mycotoxines peuvent avoir de nombreux autres effets : tératogènes, immunotoxiques, hémorragiques, oestrogéniques, hépatotoxiques ou neurotoxiques (Zain, 2010). Ainsi, les mycotoxines et leurs métabolites notamment l'AFM1, présentent un risque potentiel pour le consommateur du fait de leur excrétion dans le lait chez la vache (Gremmels, 2008). La contamination de l'aliment distribué au bétail sera conditionnée par une série d'éléments. Il s'agit des sous-produits composants la ration, de leur condition de culture, de récolte et de conservation. Les composants entrant dans la ration détermineront le complexe de mycotoxines ingéré par l'animal. Le processus de fabrication et les conditions de stockage de l'aliment seront autant de facteurs influençant la synthèse des mycotoxines (Ruppel *et al.*, 2004).

En Algérie, l'état de la présence des mycotoxines dans l'alimentation animale est mal connue; peu d'études ont été réalisées et les conséquences restent actuellement sous estimée chez les animaux et chez l'homme. Dans ce contexte, l'objectif de notre étude se focalise sur :

- Réalisation d'une analyse mycologique pour l'alimentation du bétail (les ingrédients premiers et l'aliment composé) au niveau de la Wilaya de Relizane.
- Identification des genres fongiques dominants isolés des différents échantillons
- Identification des espèces d'*Aspergillus* et *Penicillium* isolés des différents échantillons.
- Tester la capacité des souches isolées à la production des mycotoxines.
- Détection de l'aflatoxine B1 et l'ochratoxine A (OTA) dans les échantillons de l'alimentation du bétail par la technique de la chromatographie sur couche mince.

1. Le secteur de l'élevage en Algérie

Selon Nedjraoui (2001), l'élevage, en Algérie, concerne principalement les ovins, les caprins, les bovins et les camelins où les régions steppiques et présahariennes détiennent 80 pourcent de l'effectif total constitué essentiellement par le cheptel ovin.

Tableau 1.1 : Evolution du cheptel algérien durant les années (1996 -2006) (en milliers de têtes) (d'après Bouzebda, 2007).

Année	Bovin	Ovin	Caprin	Total
1996	1228	17565	2895	21688
1997	1255	17387	3120	21762
1998	1317	17948	3256	22521
1999	1649	17988	3061	22698
2000	1595	17615	3026	22236
2001	1613	17298	3129	22040
2002	1551	17587	3280	22418
2003	1560	17502	3324	22386
2004	1613	18293	3450	23356
2005	1586	18910	3589	24085
2006	1607	19610	3755	24972

Le cheptel bovin reste limité dans ses effectifs et son évolution, malgré les différences constatées dans les sources de données .Ces différences sont liées principalement aux difficultés de recensement des élevages qui sont majoritairement de type extensif (Bouzebda, 2007). L'effectif du bovin laitier moderne est passé de 254 mille têtes en 2000 à 223 mille têtes en 2007; les effectifs du bovin laitier local (BLL) et du bovin laitier amélioré (BLA) sont passés de 743 mille têtes à 656 mille têtes de 2000 à 2007. Malgré un taux de croissance annuel évalué à environ 6%, le rythme d'évolution numérique du cheptel bovin par rapport au nombre d'habitants s'avère lent. Ainsi, le taux moyen de croissance du nombre de têtes bovines par 100 habitants n'est que de 0,5% (Kali *et al.*, 2011).

2. Les ressources fourragères

L'essentiel de l'alimentation du cheptel est assuré par les milieux naturels (steppe, parcours, maquis) et artificiels (jachères, prairies) notamment en hiver et au printemps. Les ressources fourragères en Algérie se composent essentiellement des chaumes des céréales, de la végétation de jachères pâturées, des parcours steppiques, forêts, maquis et d'un peu de fourrages cultivés qui sont répertoriés dans le Tableau2 (Kali *et al.*, 2011). En Algérie, les fourrages cultivés contribuent faiblement à l'alimentation des herbivores comparés aux

plantes fourragères spontanées (Bencherchali et Houmani, 2010). Les cultures fourragères occupent annuellement 523 000 hectares soit un peu plus de 6,1 % de la surface agricole utile. La culture des fourrages est donc peu pratiquée en raison d'une faible superficie agricole utile (8,5 millions d'hectares) mais aussi en raison d'une insuffisante quantité d'eau allouée à l'agriculture. Les plantes fourragères spontanées sont, en compagnie des pailles de céréales, l'essentiel de l'alimentation des herbivores, en particulier des petits ruminants (Houmani *et al.*, 2004).

Tableau 1.2 : Les ressources fourragères en Algérie (Kali *et al.*, 2011).

Ressources fourragères	Superficie (hectares)	Productivité moyenne UF/ ha	observations
Parcours steppiques	15 à 20 millions	100	Plus ou moins dégradés
Les forêts	Plus de 3 millions	150	-
Chaumes de céréales	Plus de 3 millions	300	Nécessité d'améliorer la qualité des chaumes
Végétation de jachères pâturées	Moins de 2 millions	250	Nécessité d'orienter la végétation
Fourrages cultivés	Moins de 500 millions	1000 à 1200	Orge, avoine, luzerne, trèfle, vesce avoine et sorgho
Les prairies permanentes	Moins de 300 millions	-	Nécessité d'une prise en charge

(*Ha* : hectare, *UF* : unité fourragère)

Ces données témoignent, encore une fois, du caractère extensif de la production fourragère en Algérie (Adem et Ferrah, 2002). Une analyse de la balance fourragère pour l'année 2001 a permis de mettre en exergue la persistance d'un déficit fourrager estimé à 22 %. Mais cette moyenne recèle des disparités régionales importantes. En effet, l'analyse selon les diverses zones agro écologiques montre que les déficits sont beaucoup plus prononcés dans les zones littorales, steppiques et sahariennes pour des taux respectifs de 58 %, 32 % et 29 % (Kali *et al.*, 2011). Ce déficit fourrager a des répercussions négatives sur la productivité des animaux et se traduit par un recours massif aux importations de produits animaux à l'instar des produits laitiers et carnés (Adem et Ferrah, 2002). Toutefois les systèmes d'élevage sont mixtes et la part de la production annuelle de chaque type de produit (lait, viande) dépend de la pluviométrie, qui conditionne les disponibilités fourragères, mais aussi leur qualité. Ce qui exige la recherche des solutions pour corriger ce déficit, et parmi ces solutions adoptés par l'Algérie c'est l'importation et la valorisation (Madani *et al.*, 2004).

Ces insuffisances dans les ressources fourragères constituent un obstacle au développement de l'élevage en Algérie, ce qui conduit à des insuffisances dans les productions animales. L'élevage algérien subit des contraintes alimentaires qui limitent non seulement la production fourragère au niveau des exploitations agricoles mais également la fabrication d'aliments concentrés destinés aux cheptels laitiers. Cette fabrication industrielle est elle-même très dépendante des approvisionnements en matières premières sur le marché extérieur qui se traduisent par des coûts d'importations élevés (Djermoun et Chehat, 2012).

3. Importation d'aliment du bétail

Les importations des aliments du bétail sont en grande partie destinées aux producteurs de volailles ; la part destinée à la fabrication du concentré pour les bovins laitiers est moins importante et souvent ce sont les éleveurs eux-mêmes qui procèdent au broyage et au mélange des grains. Les prix de ces intrants alimentaires ont augmenté au cours de ces dernières années ; les experts de l'aliment du bétail prédisent même des insuffisances pour les exportations du tourteau de soja et du maïs pour les années à venir, en raison de certains effets conjoncturels, entre autre le développement des biocarburants. Les quantités des matières importées, ainsi que les sommes versées par l'Etat ont augmenté de 2000 à 2007, passant de 2 x10⁹ kg en 2000 à 3x10⁹ kg en 2007 pour 328 millions de USD en 2000, puis 750,6 millions de USD en 2007 (**Tableau 1.3**) (Kali *et al.*, 2011).

Tableau 1.3 : Evolution des importations d'aliments du bétail en Algérie (Kali *et al.*, 2011).

Années	Poids (millions tonnes)	Valeur (milliards DA)	Valeur (millions USD)
2000	2,40	24,7	328
2001	2,46	27	350
2002	2,95	32,8	424
2003	2,07	25,9	335
2004	2,43	36,6	508
2005	3,15	39,4	537
2006	2,94	37,8	521
2007	3,01	52	750

4. Valorisation des sous produits en Algérie

Les sous-produits agro-industriels ont une importance considérable pour l'alimentation animale dans la région méditerranéenne compte tenu des caractéristiques nutritionnelles des ressources fourragères disponibles dans cette région, en particulier pour les Ruminants. La

bonne utilisation de ces sous-produits dans l'alimentation animale nécessite la maîtrise de leur conservation, la connaissance de leur composition, de leur valeur alimentaire et des moyens susceptibles de l'améliorer (Laure, 1991).

4.1. Les sous produits céréaliers

La part des céréales dans l'alimentation humaine en Algérie est importante. Cette forte consommation génère un tonnage important des sous produits, utilisés pour réduire le coût de l'alimentation animale, parmi lesquelles le son qui occupe une large part de la production totale de la meunerie, et la paille disponibles en grande quantité: 25 à 30 millions de quintaux par an (Triki *et al.*, 2008).

4.2. Les sous produits de l'olivier

Les sous produits de l'extraction de l'huile laissent un résidu dont le poids représente 80% de celui des olives traités (Loussert et Brousse, 1978). En Algérie, l'industrie oléicole laisse chaque année un sous produit solide abondant et abandonné. Ce résidu peut constituer une ressource fourragère importante pour les ruminants grâce à l'aptitude de ces derniers à utiliser et valoriser les aliments lignocellulosiques. Les sous-produits principaux d'olivier sont les grignons, mais aussi les feuilles. Ce sont des aliments lignocellulosiques qui présentent des caractéristiques comparables à celles de la paille (Zaidi *et al.*, 2007).

4.3. Les sous produits du palmier dattier

Selon Chehma et Longo (2001), L'utilisation des sous produits du palmier dattier dans l'alimentation du bétail est, depuis longtemps, pratiqué par les éleveurs locaux d'une façon traditionnelle. Les sous produits sont disponibles avec des tonnages annuelles estimés à 135 000 tonnes de palmes sèches, 5 000 tonnes de pédicelles de dattes et 67 500 tonnes de rebuts de dattes, et l'étude de leur valeur alimentaire a donné des résultats plaçant les rebuts de dattes dans la catégorie des concentrés énergétiques avec 0,94 unité fourragère / kg de matière sèche.

5. La qualité de l'alimentation du bétail

L'industrie des aliments pour animaux, est un fournisseur important pour les éleveurs. Dans l'élevage intensif, la part des aliments dans les coûts totaux de production est assez élevée, allant de 40% à 60%. En conséquence, le prix et la qualité sont très

importants. Selon Hartog (2003), la qualité de l'alimentation du bétail comprend les aspects suivants:

- La qualité nutritionnelle: il s'agit de la valeur nutritive du produit, exprimée en énergie disponible, les acides aminés et les composants essentiels comme les vitamines, les oligo-éléments, et tous les facteurs déterminants pour la performance des animaux, et par conséquent essentiel à la rentabilité de l'élevage.
- La qualité technique: il s'agit des caractéristiques de l'alimentation, tels que la taille et la dureté des granulés, la finesse, la saveur.
- La qualité émotionnelle, qui est relié à l'éthique et l'éthologie.
- La sécurité pour les animaux, l'environnement (lié à l'excrétion dans le fumier) et les consommateurs de produits d'origine animale, et ça par l'absence à des niveaux inacceptables de substances indésirables et de germes pathogènes dans les produits qui peuvent causer des problèmes de santé pour l'homme.

Par ailleurs, Les moisissures toxigènes et les mycotoxines constituent un danger réel pour la santé humain et animale (Pavel, 2010), et par conséquent affecte fortement la qualité de l'alimentation animale.

1. Origine des mycotoxines

Selon Guerre et ses collaborateurs (2000), le terme de "mycotoxines" dans son sens le plus large, regroupe tous les composés toxiques susceptibles d'être présents dans les aliments suite à leur contamination par des moisissures. Trois grands modes de synthèse des toxines peuvent intervenir :

- une synthèse complète par les cellules fongiques,
- une synthèse anormalement élevée de toxines végétales en réponse à l'agression fongique,
- une biotransformation par les moisissures de composés synthétisés par les végétaux.

Les céréales sont des vecteurs importants de mycotoxines puisqu'elles sont universellement consommées par l'Homme et les animaux. A savoir que de 25 à 40 % des céréales sont contaminées par des mycotoxines. Parmi les toxines les plus dangereuses, les aflatoxines issues d'*Aspergillus flavus* et *A. parasiticus*, qui sont des moisissures de stockage, sont fréquemment présentes dans les céréales (Yiannikouris et Jouany, 2002). L'OTA peut être présente dans toutes les céréales. On la rencontre principalement dans le maïs, l'orge, l'avoine, le seigle, le blé, et les oléagineux, lorsque les produits ont été mal séchés avant leur stockage (AFSSA, 2009). Les trichothécènes tels que le déoxynivalénol (DON), le diacétoxyscirpénol (DAS), la toxine T-2 et l'hydroxy-T-2 (HT-2) produits par *Fusarium spp* peuvent être présents dans la plupart des céréales durant la récolte et le pré-stockage (AFSSA, 2009). La ZEN est présente dans le maïs principalement, et plus faiblement dans le sorgho, les graines de sésame, l'orge, le blé et l'avoine récoltés tardivement. Les fumonisines (FB1, FB2, FB3) sont associées principalement au maïs, alors qu'elles ne sont pas présentes dans les grains de blé (AFSSA, 2009). La contamination des oléagineux, graines ou tourteaux, couramment utilisés en alimentation animale, est principalement due aux trois genres de moisissures *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium*, mais selon Yiannikouris et Jouany, (2002), les mycotoxines issues de ces moisissures sont largement détruites lors de l'extraction des huiles et des traitements industriels.

2. Bioconversion des mycotoxines chez le ruminant

Une fois ingérée, les mycotoxines sont transformées d'abord dans le rumen puis dans d'autres organes comme le foie. Il en résulte une modification de la structure et de la toxicité des toxines fongiques qui confère généralement aux ruminants une plus grande résistance aux effets néfastes de la plupart des mycotoxines par rapport aux animaux monogastriques (AFSSA, 2009).

2.1. Dans le rumen

Les toxines T-2, HT-2, DON et DAS sont toutes dégradées en présence de contenu de rumen, quand elles sont administrées à des doses de 10 µg/ml (Upadhaya *et al.* , 2010).

- Le DAS est dé-acétylé en MAS (monoacétoscirpénol) et scripénetriol puis en dé-époxy MAS et dé-époxyscripénetriol. Ces composés ont une toxicité comparable à celle de la molécule mère.
- La toxine T-2 est transformée en HT-2 et en néosolaniol qui sont de toxicité équivalente pour la HT-2 et 10 fois moins importante pour le néosolaniol.
- Le DON est transformé en dé-époxyDON (généralement appelé le DOM-1) qui est de toxicité inférieure

Les autres bioconversions sont généralement multiples :

- L'OTA est dégradée dans le rumen en phénylalanine et en ochratoxine alpha non toxique. Cependant elle peut également être estérifiée en ochratoxine C de toxicité similaire (Yiannikouris et Jouany, 2002).
- La ZEN est majoritairement transformée (plus de 90 %) en alpha-zéaralénol dont la toxicité est environ 10 fois plus forte que celle de la toxine mère et, à un degré plus faible, en beta-zéaralénol qui est peu toxique (Pruild, 2007).
- Les aflatoxines sont généralement peu dégradées dans le rumen des bovins (<10% pour des doses de 1 à 10µg/ml). La formation d'aflatoxicol (dérivé hydroxylé de l'aflatoxine B1) qui est de toxicité élevée a été montrée. En effet, 10µg/ml d'AFB1 inhibe de nombreuses bactéries ruminales. De ce fait, il semblerait que cette toxine perturbe le fonctionnement et la croissance de la flore du rumen (Auerbach *et al.*, 1998).
- Les fumonisines ne sont pas dégradées par la microflore du rumen mais passent directement dans l'intestin et les fèces (Pfohl , 1999).

Selon Yiannikouris et Jouany, (2002), l'action du rumen est fortement sous la dépendance du type d'alimentation qui peut modifier l'équilibre de l'écosystème microbien. Les protozoaires semblent plus efficaces que la fraction bactérienne dans le métabolisme des mycotoxines mais sont également plus sensibles à leurs effets. Des bactéries comme *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Selenomonas ruminantium* et *Anaerovibrio lipolytica* sont même capables d'utiliser des toxines comme source d'énergie grâce à l'existence de systèmes enzymatiques particuliers. Malgré la capacité du rumen pour inactiver les mycotoxines, il existe la probabilité d'effets néfastes sur la santé chez les ruminants. Par exemple, certaines

aflatoxines sont converties en métabolites qui conservent une activité toxique. L'évaluation des effets indésirables exercée chez les ruminants devrait inclure l'activité antimicrobienne des différents mycotoxines qui se traduit par une altération de la fonction de la flore du rumen, et réduction du gain de poids et de productivité (Upadhaya *et al.* , 2010).

2.2. Dans l'intestin, le foie et les reins

L'épithélium intestinal, le foie et les reins sont des organes où ont lieu d'importante biotransformations et notamment des mycotoxines (Guerre *et al.*, 2000).

Selon Galtier, (1999) ces transformations se font en deux phases :

2.2.1. La première phase : Fait intervenir des réactions de réduction, d'oxydation et d'hydrolyse. Les réactions d'oxydations sont régies par différentes enzymes comme les cytochromes P450 microsomaux, les monooxygénases, des synthases de prostaglandines, des amines-oxydases et des alcool-deshydrogénases. Quant aux réactions de réductions elles font intervenir des époxyde-hydrolases et des aldéhyderéductases ou cétone-réductases.

2.2.2. La deuxième phase : Comporte les réactions de conjugaison des molécules formées durant la première phase. Ces conjugaisons font intervenir des glucuronosyl-transférases microsomales et des sulfonyl-, méthyl-, aminoacyl-, S-glutathione- et N-acétyl-transférases cytosoliques.

Les aflatoxines B1 peuvent être hydrolysées partiellement par des hydrolases du foie ou des enzymes intestinales en monoester et aminopentol qui peuvent alors être excrétés dans les fèces mais aussi en alfatoxine M1 qui peut être excrétée par voie lactée. (Galtier, 1999). L'OTA est bioconvertie par le cytochrome P450 des microsomes hépatiques en hydroxy-ochratoxine A (OH-OTA) qui aurait des propriétés immunosuppressives identiques à l'OTA. La détoxification des trichothécènes s'effectue principalement par une réaction de glucuronidation et une réduction du groupement époxy responsable de la réactivité de ces métabolites. Le DAS est métabolisé en produits dé-époxylés et déacétylés. Le DON est transformé en déépoxy DON (ou DOM-1) qui subit à son tour une glucuronidation, ce qui augmente son hydrophilie et son excrétion hors de l'organisme animal (Yiannikouris et Jouany, 2002). La ZEN subit l'action de réductases dans le foie conduisant à de l'alpha et du beta-zéaralénol (Galtier, 1999).

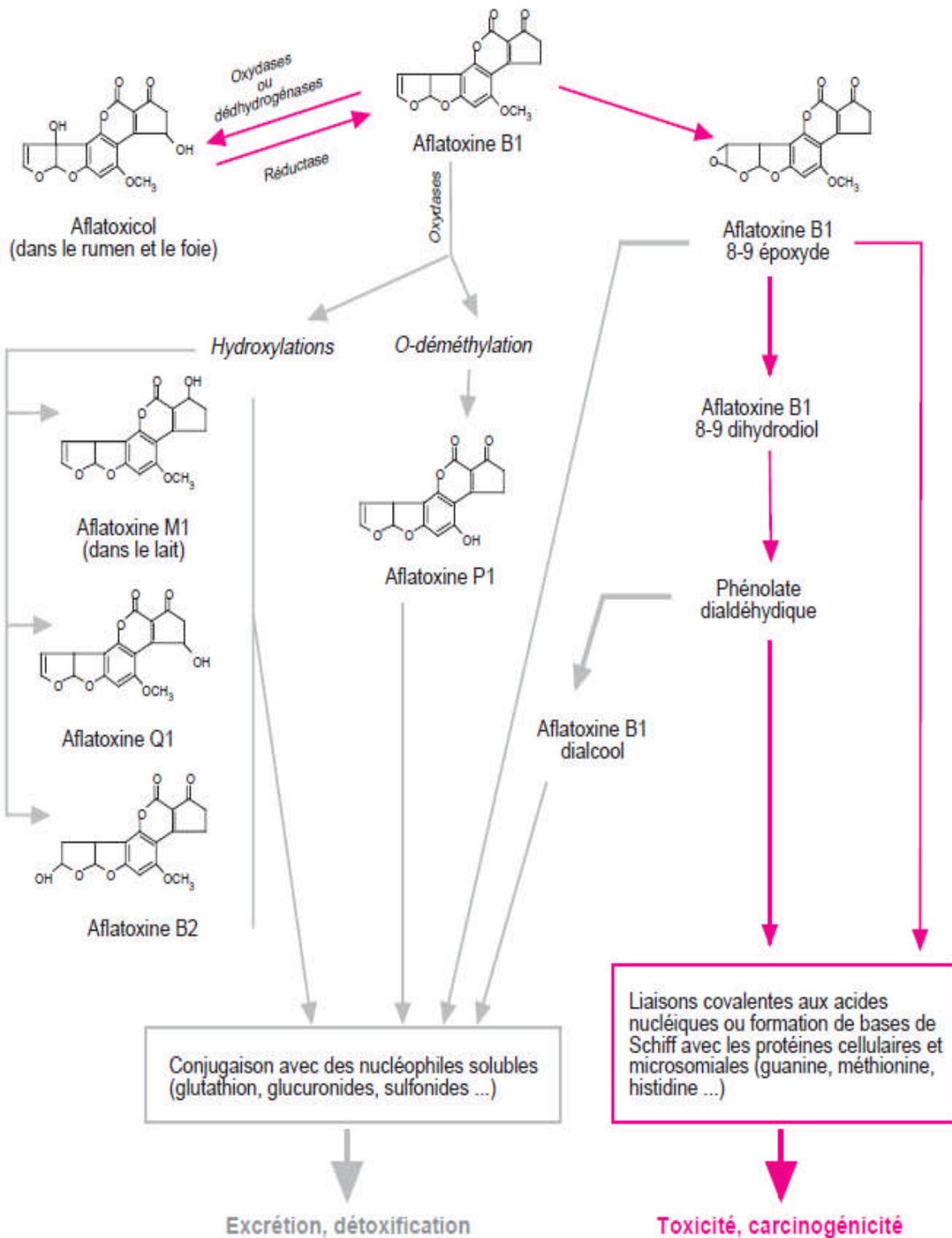


Figure 2.1: Métabolisme de l'aflatoxine B1 dans le foie (d'après Yiannikouris et Jouany, 2002).

3. Voies d'élimination des mycotoxines et transfert dans les productions animales

3.1. Excrétion urinaire et fécale

L'excrétion fécale résulte d'un manque d'absorption par le tractus gastrointestinal ou d'une grande efficacité d'élimination des toxines ou de leurs métabolites par le système biliaire (Yiannikouris et Jouany, 2002). L'AFB1 et l'OTA sont principalement excrétés dans les urines et les fèces. La part excrétée dans les fèces résulte d'une absorption partielle et d'une élimination des mycotoxines et de leurs métabolites par clairance hépatique. Bien que leur métabolisation soit différente, l'excrétion fécale semble aussi efficace et peut représenter jusqu'à 53% des doses reçues d'AFB1 et d'OTA (Boudra, 2011). Les principaux métabolites retrouvés dans les fèces sont des aflatoxines conjuguées (Galtier, 1999). L'excrétion urinaire est également une voie importante d'élimination qui peut représenter 30% des doses d'AFB1 et 70% des doses d'OTA ingérées selon les conditions expérimentales (Hohler *et al.*, 1999). L'AFM1 et l'OT α sont les métabolites les plus abondants dans l'urine (Boudra, 2011). La gluco-conjugaison effectuée par le foie, à l'origine de l'excrétion urinaire de ces mycotoxines, évite, entre autre, en partie l'excrétion par la voie lactée des toxines fongique (Jouany, 2007).

3.2. Excrétion dans le lait

Chez le ruminant laitier, le lait représente une voie mineure d'excrétion des mycotoxines (Boudra, 2011). Seules les mycotoxines stables, non hydrolysables, passeront la barrière digestive et seront susceptibles de subir une excrétion lactée, éventuellement après biotransformation hépatique (Guerre *et al.*, 2000). Les Aflatoxines totales sont transférées faiblement depuis l'aliment jusque dans le lait à un taux de 0,3 et 2,2%. Cependant, l'aflatoxine M1, un métabolite de l'aflatoxine B1 dont le pouvoir toxique est équivalent à l'AFB1, a la particularité d'être excrétée de façon non négligeable dans le lait (la quantité d'AFM1 représente 1 à 2 % de la quantité d'AFB1 ingérée) (Boudra *et al.*, 2007). Les taux excrétés peuvent atteindre 6% de la dose ingérée chez la vache à haute production laitière (Veldman *et al.*, 1992). La présence d'OTA et de son métabolite l'ochratoxine alpha ont été mis en évidence dans le lait de vache, de chèvre et de brebis exposées à de l'aliment contaminé. Les essais conduits chez le modèle brebis ont montré que les taux n'excèdent pas 0.05% des doses ingérées en cas d'exposition chronique (Boudra, 2011). La zéaralénone est excrétée sous forme de zéaralénone, d'alpha-zéaralénol et de bêta-zéaralénol. En dehors de l'AFM1, les taux d'excrétion de ces mycotoxines sont toutefois très faibles (Guerre *et al.*, 2000).

3.2.1. La stabilité dans les produits laitiers

L'AFM1 est stable dans le lait et durant les différents processus de transformation du lait (Boudra, 2011). La stabilité de l'AFM1 aux traitements thermiques est excellente, la pasteurisation ou la réfrigération des laits crus n'ayant quasiment aucun effet sur les teneurs initiales en AFM1. De même, la déshydratation du lait cru est à l'origine d'une "concentration" de l'AFM1 dans le lait en poudre d'un facteur 10, en fait ceci correspond à la "perte" de la phase aqueuse qui représente environ 90 % du lait. Au cours de l'écémage, 10 % de la teneur en AFM1 passe dans la crème, le reste passe dans le lait écrémé (Guerre *et al.*, 2000). L'OTA a également été montré stable à des températures allant jusque 200°C (Boudra, 2011).

3.3. Dans les viandes

La viande est généralement peu propice à l'accumulation des toxines fongiques. Pour le bétail, le rapport de conversion est de 10 000 / 1 à 14 000 / 1. Les viandes ne sont donc pas des vecteurs importants de mycotoxines (Smith et Moss, 1985). Les animaux consommateurs d'aliments contaminés contribuent même à réduire la quantité des mycotoxines dans la chaîne alimentaire, à l'exception de l'ochratoxine A qui s'accumule dans les tissus et organes du porc. Cette toxine pose un problème sanitaire dans les pays du nord et de l'est de l'Europe où la viande de porc est pratiquement la seule viande consommée (Berthier et Valla, 2008). Les aflatoxines peuvent être détectées dans le foie, les reins et les muscles de volailles, de porc ou de ruminants en conditions expérimentales. Leur présence sur le terrain n'est généralement constatée que dans les viandes de porc, de bovin et les charcuteries provenant de certains pays où la contamination des aliments pour animaux est fréquente à des niveaux élevés (Boudra, 2011).

4. L'exposition de l'homme

La contamination des productions animales par les aflatoxines et les ochratoxines est une préoccupation de sécurité alimentaire. Chez l'homme, les cas de mycotoxicoses aiguës sont rares et se déclarent plutôt dans les pays où la consommation de nourriture locale et l'agriculture de subsistance sont pratiquées (Shephard, 2008). En revanche, la présence d'aflatoxines et d'ochratoxines dans le lait pose un problème d'hygiène alimentaire. La consommation régulière de lait ou de produits laitiers contaminés est un facteur aggravant le risque de contamination pour une large population d'individus, notamment les individus les plus sensibles aux effets des mycotoxines. La présence d'aflatoxines et d'ochratoxines dans le

lait utilisé en substitution au lait maternel, les yoghourts et les fromages démontrent le potentiel d'exposition des nourrissons et des enfants en croissance (Meucci *et al.*, 2010).

Tableau 2.1 : Pathologies chroniques humaines associées à la contamination alimentaire par les Aflatoxines et les Ochratoxines (Boudra, 2011).

Mycotoxine	Action toxique	Pathologie
Aflatoxines	Carcinogène Hépatotoxique	Hépatocarcinome
	Hépatotoxique	Syndrome de Reye
	Hépatotoxique	Kwashiorkor
Ochratoxines	Carcinogène	Cancer des testicules
	Néphrotoxique	Néphropathies des Balkans
	Neurotoxique	Maladies neurodégénératives (Maladie de Parkinson et d'Alzheimer)

5. Effets des mycotoxines sur la santé des ruminants

Les effets biologiques des mycotoxines dépendent des doses ingérées, du nombre de toxines présentes, de la durée d'exposition aux mycotoxines et de l'état sanitaire de l'animal.

5.1. Les aflatoxicoses

L'investigation menée lors de la « maladie X du dindon », qui a sévi en 1960 en Angleterre, a permis de mettre en évidence la présence d'une toxine dans la nourriture de ces volailles, à base de tourteaux d'arachide. Des études conduites sur la matière première qui avait été contaminée par une moisissure du genre *Aspergillus* aboutirent à la caractérisation des aflatoxines (AFSSA, 2009). L'AFB1 est le composé le plus abondant dans les aliments contaminés, mais aussi le plus toxique suivi par l'AFG1, l'AFB2 et l'AFG2 avec une toxicité décroissante (Boudra, 2011).

***Les toxicoses aiguës :** elle provoque des signes importants de lésions du foie induisant des congestions et des hémorragies. L'aflatoxicose entraîne une accumulation d'acides gras dans le foie, les reins et le coeur, et peut être à l'origine d'encéphalopathies et d'oedèmes. La mort de l'animal peut survenir en quelques heures ou quelques jours (Riley, 1998).

***Les toxicoses chroniques :** c'est le cas le plus fréquent, le foie reste la principale cible. Les aflatoxines agissent comme des intercalants ADN en créant des liaisons avec les bases guanines ce qui entraîne la mort de la cellule ou sa transformation en tumeur maligne (Riley, 1998).

5.2. Les ochratoxicoles

Les ochratoxicoles ont rarement été observées chez les ruminants du fait de la capacité des microorganismes du rumen à hydrolyser l'OTA en OTA alpha, peu toxique, et en phénylalanine. La capacité de détoxification du rumen peut toutefois être débordée dans le cas d'une contamination importante.

***Les toxicoses aiguës :** Elles se caractérisent par des dommages rénaux, une anorexie accompagnée d'une perte de poids, des vomissements, une température rectale élevée, l'apparition de conjonctivites, une déshydratation, un affaiblissement général et la mort de l'animal deux semaines après l'administration de la toxine (Yiannikouris et Jouany, 2002).

***Les toxicoses chroniques :** se manifestent par une réduction de l'ingestion, une polydipsie et des lésions rénales. L'OTA peut inhiber le métabolisme du glucose et de l'insuline, ce qui entraîne l'accumulation de glycogène dans le foie. Elle entraîne une baisse de l'activité phosphoenolpyruvate- carboxykinase (PEPCK) provoquant une réduction de la néoglucogénèse rénale. L'OTA a des propriétés immunotoxiques et carcinogènes en diminuant le nombre de cellules 'Natural Killer' responsables de la destruction des cellules tumorales, ce qui contribue à augmenter sa capacité à induire des carcinomes rénaux et hépatiques. Elle a également un effet inhibiteur sur les lymphocytes B et T (Marquardt et Frohlich, 1992).

5.3. Zéaralénone

Les effets de la ZEN sont dominés par des troubles de la reproduction et des modifications physiques des organes génitaux identiques à ceux de l'oestradiol : oedèmes et hypertrophie des organes génitaux des femelles prépubères, diminution du taux de survie de l'embryon chez les femelles en gestation, diminution des quantités de LH et de progestérone produites affectant la morphologie des tissus utérins, diminution de la production de lait, féminisation des jeunes mâles par diminution de la production de testostérone, infertilité et morbinatalité (Yiannikouris et Jouany, 2002).

5.4. Les trichothécènes

Les trichothécènes provoquent une perte de poids, des vomissements, des dermatoses sévères et des hémorragies pouvant aller jusqu'à la mort de l'animal (Whitlow et Hagler, 2001). Tout comme les aflatoxines, ils possèdent des propriétés immunosuppressives intervenant à la fois sur le système immunitaire des cellules et sur le nombre de macrophages, de lymphocytes et d'érythrocytes (Riley, 1998).

5.5. Patuline

La patuline a des pouvoirs carcinogène et mutagène. Les signes cliniques pouvant être observés sont des syndromes nerveux. Chez les ruminants notamment c'est une paralysie des réservoirs gastriques qui est à l'origine des troubles de l'ingestion et de la digestion. Ces troubles ont des effets néfastes sur la production laitière et la croissance (Riley, 1998).

6. Les conséquences économiques

La contamination des aliments pour animaux par les mycotoxines occasionnent des coûts économiques directs et indirects pour la filière d'élevage. Les pertes directes sont dues à l'altération de l'aliment par les moisissures. Le développement fongique peut conduire à la destruction de la récolte lorsque le végétal est fortement attaqué et que le grain et les fourrages sont rendus inconsommables. Dans d'autres cas, la croissance des moisissures se traduit par une altération sensorielle et nutritionnelle des récoltes (diminution des teneurs en matière sèche, matière azotée et glucides) responsable d'un refus ou une diminution de l'ingestion par l'animal. Dans ces situations, la ration contaminée ne couvre pas les besoins énergétiques de l'organisme (Boudra, 2011). Les pertes indirectes sont causées par la production de mycotoxines indépendamment de la qualité des récoltes. La présence de mycotoxines sur les aliments peut entraîner une baisse du revenu de l'éleveur par la chute de la productivité des animaux de rente auxquelles s'ajoutent des frais de soins vétérinaires (vaccination, antibiothérapie) (Boudra, 2011).

7. Prévention du risque mycotoxicologique

Les mycotoxines étant essentiellement produites durant la conservation des céréales, l'éleveur peut mettre en place des mesures préventives pour abaisser les teneurs des mycotoxines dans les denrées qu'il produit et stocke à la ferme. Ainsi, Afin d'abaisser le risque de toxicité à un niveau faible, des dispositions réglementaires ont été mises en place concernant la contamination de l'alimentation animale par les aflatoxines et sont en préparation pour l'OTA (**Voir annexe 12 et 13**).

7.1. Contrôle du développement des moisissures

Le contrôle de la croissance des moisissures passe par le maintien de l'intégrité physique des grains des céréales dans le but de limiter l'accès aux nutriments qu'ils contiennent, et par une maîtrise stricte des conditions environnementales telles que l'humidité, l'oxygène et la température (Whitlow et Hagler, 2001). Le séchage constitue une étape

essentielle de la conservation des aliments secs et le respect de l'anaérobiose est primordial dans le cas d'aliments conservés sous forme humide. L'utilisation d'agents antifongiques peut apporter une garantie complémentaire lorsqu'un risque prévisible existe (Whitlow et Hagler, 2001). Ainsi l'acide propionique inhibe le développement des moisissures en abaissant le pH et en réduisant la formation d'ATP par la voie du transport d'électrons, le chlorure de sodium joue sur la pression osmotique des cellules et diminue la quantité d'eau libre du foin insuffisamment séché, l'ammoniac détruit la mycoflore globale, mais de façon temporaire (Yiannikouris et Jouany, 2002). Selon Ozkan et ces collaborateurs 2011, la fumigation au O₃ peut contrôler les champignons pathogènes sur les produits du post-récolte qui tolèrent ce gaz, ou elle peut être appliquée pour désinfecter les salles de stockage et d'équipement lorsque le produit n'est pas présente. Ainsi, selon Fiore et ces collaborateurs 2010, l'imagerie hyperspectrale est capable de discriminer rapidement les grains de maïs commerciaux infectés par des champignons toxigènes à partir de témoins non infectés lorsque les méthodes traditionnelles ne sont pas encore entrées en vigueur: à savoir à partir de 48 h après l'inoculation avec *A. niger* ou *A. flavus*. D'autre part, les produits naturels de plantes avec des propriétés antimicrobiens pourraient être une possibilité de lutter contre les champignons mycotoxigéniques dans l'aliment du bétail (Garcia *et al.*, 2011).

7.2. Recherche systématique d'une contamination

Une approche doit être, réalisée dans le cadre du suivi des teneurs en AFM1 dans le lait. Cette démarche passe par des outils analytiques puissants (chromatographie liquide haute pression, parfois chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse). Seuls certains composés sont recherchés ; un faible pourcentage des lots est analysé (Guerre *et al.*, 2000).

7.3. Décontamination des produits laitiers

Les adsorbants non spécifiques (résines, aluminosilicates, charbons) semblent les plus efficaces dans une décontamination des aliments. Ils ne sont toutefois pas efficaces à 100 %, des différences importantes entre mycotoxines étant observées, principalement en raison de la diversité des propriétés physiques et chimiques de ces composés (Hagler, 2005). Enfin, les adsorbants spécifiques (immunoaffinité) sont certes très efficaces mais également très spécifiques, d'une famille de composés voire d'une mycotoxine, et par là inadaptés à une décontamination globale des aliments (Guerre *et al.*, 2000).

7.4. Traitements limitant les effets des mycotoxines

7.4.1. Méthodes physiques

Des méthodes telles que le tri et l'élimination des grains contaminés, le lavage par de l'eau ou du carbonate de sodium afin de réduire la concentration des toxines de *Fusarium spp* dans le maïs, l'inactivation thermique à haute température, l'irradiation par UV, rayons X ou micro-ondes, l'extraction des aflatoxines par des solvants ont pu être utilisées (Scott, 1998). L'ajout à la ration d'adsorbants capables de fixer les mycotoxines permet de réduire leur biodisponibilité dans l'organisme animal et de limiter les risques liés à la présence de résidus dans les produits animaux destinés à la consommation humaine. Les aluminosilicates de sodium calcium hydratés (HSCAS) ainsi que les phyllosilicates dérivés de zéolites naturelles possèdent une grande affinité in vitro et in vivo pour l'AFB1 (Diaz *et al.*, 1999).

7.4.2. Méthodes chimiques

Une variété d'agents chimiques tels que les acides, les bases (ammoniaque, soude), des agents oxydants (peroxyde d'hydrogène, ozone), des agents réducteurs (bisulfites), des agents chlorés, du formaldéhyde sont utilisés pour dégrader ou biotransformer les mycotoxines et plus particulièrement les aflatoxines (Scott 1998). En ce qui concerne les tourteaux destinés à l'alimentation animale, les processus de détoxification par l'ammoniaque associée ou non au formol permettent d'éliminer une partie des aflatoxines (AFSSA, 2009).

7.4.3. Méthodes microbiologiques

Certaines souches de bactéries lactiques, de propionibactéries et de bifidobactéries possèdent des structures pariétales capables de se lier aux mycotoxines (Yiannikouris et Jouany, 2002). *Flavobacterium aurantiacum* peut fixer l'AFB1 et la rendre inactive. Des microorganismes peuvent également métaboliser les mycotoxines (*Corynebacterium rubrum*) (Nakazato *et al.*, 1990). Toutefois, ce phénomène est en général lent et peu efficace. Une nouvelle approche a été mise en place par consistant à isoler des souches d'*Aspergillus flavus* et *A. parasiticus* non aflatoxinogènes en vue d'une biocompétition. Ces souches occupent la même niche écologique que les souches toxigènes et diminuent la contamination des plantes par les moisissures aflatoxinogènes (Cotty et Bhatnagar, 1994). Selon Whitlow et Hagler (1999), le ligand issu de la paroi cellulaire (les glucomannanes) de levure (*Saccharomyces cerevisiae*) réduit de 58 % les concentrations d'AFM1 dans le lait de vache

recevant des aliments contaminés par l'aflatoxine lorsqu'il est utilisé à un taux d'inclusion de 0,05 % de la matière sèche de la ration.

7.5. Le système HACCP

Selon Magan et Olsen, (2004), le système HACCP est une attitude particulièrement appropriée à adopter en matière de lutte contre les mycotoxines, et cela pour plusieurs raisons:

- 1- Les mycotoxines ont la tendance à être composés stables, qui sont difficiles à enlever une fois formé, peuvent survivre plusieurs étapes des traitements impliqués dans l'industrie alimentaire.
- 2- L'analyse des mycotoxines est généralement compliquée, coûteux et chronophage.
- 3- La présence de mycotoxines dans un produit fini est souvent le résultat d'événements et de circonstances affectant les produits beaucoup plus tôt dans la chaîne de production. Une approche préventive couvrant la totalité de la chaîne d'approvisionnement des produits de base pourrait donc constituer une stratégie très efficace.

Mais, l'application de l'analyse des risques et maîtrise des points critiques (HACCP) à la production primaire n'est pas encore généralement possible (ce n'est pas pratique) selon le règlement de l'Union européenne sur l'hygiène des denrées alimentaires n ° 853/2004 (EU, 2004). Selon une étude faite en France par Cerf et Donnat (2011), le système HACCP n'est pas entièrement applicable au niveau de la production primaire, et que la sécurité de nourriture est obtenue par la mise en œuvre attentive de bonnes pratiques d'hygiène (BPH) à la ferme.

Tableau 2.2 : Propriétés des principales mycotoxines contaminant les aliments des ruminants (Guerre *et al.*, 2000).

Mycotoxicose	Aliments	Moisissures *	Mycotoxines	Propriétés **
Eczéma facial	Ray grass	<i>Pithomyces chartarum</i>	Sporidesmines	Polycyclique, basique, très peu hydrosoluble
Fescue foot disease	Fétuques	<i>Acremonium coenophialum</i>	Lolitrems, Ergotamine	Polycycliques, basiques forme NI liposoluble, forme I hydrosoluble
Rye grass stagger disease	Ray-grass	<i>Acremonium lolii</i>	Lolitrems Alcaloïdes	Polycycliques, basiques forme NI liposoluble, forme I hydrosoluble
Ergotisme	Seigle, Graminées	<i>Claviceps purpurea</i> <i>C. paspali</i>	Alcaloïdes	Polycycliques, basiques forme NI liposoluble, forme I hydrosoluble
Stachybotryotoxicose	Paille Fourrages	<i>Stachybotrys atra</i>	Satratoxines Verrucarine Trichothécènes macrocycliques	Lactones macrocycliques époxydées, neutres liposolubles très peu hydrosolubles
Trifollose	Légumineuses vert ou fourrages	<i>Pseudopeziza medicaginis</i> <i>Leptosphaerulina briosiana</i>	Coumestrol	Polycyclique, acide faible forme NI liposoluble, forme I hydrosoluble
Sialorrhée des ruminants	Légumineuses	<i>Rhizoctomia leguminicola</i>	Staframine	Hétérocycles azotés Hydro et liposoluble
Maladie du mélilot gâté	Mélilot, flouve odorante, férule	Nombreuses	Dicoumarol	Polycyclique, acide faible forme NI liposoluble, forme I hydrosoluble
Myrothéciose	Ray grass	<i>Myrothecium</i>	?	?
Trichothécioses	Céréales (Foins, pailles)	<i>F. graminearum</i> <i>F. sporotrichoides</i> <i>F. culmorum</i>	Trichothécènes groupes A et B	Polycycliques époxydés, neutres, liposolubles très peu hydrosolubles
Aflatoxicose	Céréales, riz, arachide, sorgho	<i>A. flavus</i> <i>A. fumigatus</i>	Aflatoxines	Polycycliques, neutres liposolubles, très peu hydrosolubles
Ochratoxicose	Céréales	<i>A. ochraceus</i> <i>P. viridicatum</i>	Ochratoxines	Polycycliques, acides liposolubles forme I peu hydrosoluble
Syndrome oestrogénique	Céréales (maïs)	<i>F. graminearum</i> <i>F. culmorum</i>	Zéaralénone	Lactone macrocyclique, acide faible liposoluble forme I peu hydrosoluble
Aucune (Ruminants résistants)	Maïs	<i>F. moniliforme</i>	Fumonisines	Aliphatiques, polyacides, parfois amphotères Peu liposolubles Forme I très hydrosoluble
Diplodiose	Epis de maïs	<i>Diplodia maydis</i>	?	?
Troubles divers	Ensilages	<i>A. clavatus</i> <i>P. cyclopium</i> <i>Byssoschlamys nivea</i>	Patuline ?	Furannolactone, neutre hydrosoluble liposoluble
Troubles divers	Pulpes de betterave	<i>P. roqueforti</i> <i>A. fumigatus</i> <i>Trichoderma viride</i>	?	?

* A : *Aspergillus* ; P : *Penicillium* ; F : *Fusarium*.

** NI : non ionisée ; I : ionisée.

1. Prélèvements des échantillons

L'échantillonnage fait partie intégrante des procédés d'analyse (FAO, 1992). Etant donnée la variabilité des teneurs en moisissures et en mycotoxines au champ ou dans un lot, la première difficulté consiste à obtenir un échantillon le plus représentatif possible. En effet, la majorité des problèmes de détection et de quantification des mycotoxines sont généralement dues à la stratégie d'échantillonnage.

1.1. La région étudiée

Les établissements concernés par notre étude sont représentés par des petites unités de fabrication de l'alimentation du bétail, situés au niveau d de wilaya de Relizane. Ces petites unités utilisent des broyeurs et des mélangeurs pour fabriquer le produit finie, qui est remplie dans des grands sacs en carton de 50 Kg et livré pour les vendeurs de l'alimentation du bétail.

1.2. Nature des prélèvements effectués

Pour procéder à des analyses afin de déceler la présence des moisissures mycotoxinogènes et des mycotoxines, il faut prélever des échantillons de l'aliment composé préparé et des ingrédients suspects, individuellement.

1.2.1. La matière première

La matière première est constituée par le maïs, tourteaux de soja, le son et les compléments minéraux et vitaminiques (CMV). Un ensemble de huit échantillons étaient prélevés de chaque ingrédient, à partir de différentes unités de fabrication.

1.2.2. L'aliment composé (alimentation finale)

L'alimentation finale est un mélange préparé à partir les ingrédients premiers avec des pourcentages différents selon type et l'âge des animaux. Notre étude est s'intéresse par l'alimentation destinée aux ruminants adultes qui constituent la majeure partie de nos cheptels. Un ensemble de huit échantillons étaient prélevés à partir l'aliment composé.

1.3. Techniques d'échantillonnage

Nous avons prélevé trois à cinq échantillons primaires au moment où les aliments sont passés par les processus de fabrication ou d'une livraison complète, et ça à partir de la surface et des couches profondes du compartiment de stockage mais aussi prélevé certains échantillons sur les côtés ou les rebords du compartiment, qui sont plus propices à l'apparition de moisissures (Tarr, 2003). On a bien mélangé les échantillons prélevés, en retirer un échantillon composite de 1000 à 500 g et le conserver dans un lieu sec et frais. Tous les

échantillons sont conservés dans des sacs en plastique à double épaisseur (Tarr, 2003). Généralement, la décision d'accepter ou de rejeter un lot repose sur les preuves issues de l'analyse de l'échantillon, Quand les mycotoxines sont réparties d'une manière homogène dans tout le lot à inspecter, l'échantillonnage est facilité. L'erreur totale d'un processus analytique comprend trois termes: l'erreur d'échantillonnage, l'erreur de sous-échantillonnage et l'erreur d'analyse proprement (FAO, 1992).

Tableau 3.1 : Dates des prélèvements, poids et origine des échantillons de la matière première et d'aliment composé prélevées au niveau de la wilaya de Relizane.

Origine	Echantillons	Dates des prélèvements	Poids (g)
Unité de fabrication Gueblie El hmadna	*Maïs	23/12/2010	500
	*Tourteaux de soja	21/01/2011	
	*Son	19/03/2011	
	* Aliment composé	09/03/2011	
		19/03/2011	
		26/03/2011	
Unité de fabrication El aide Zemoura	*Maïs	09/01/2011	500
	*Tourteaux de soja	25/03/2011	
	*Son		
Unité de fabrication El zaoui Zemoura	* Aliment composé	25/03/2011	500
	*Maïs	17/01/2011	
	*Tourteaux de soja	01/04/2011	
Unité de fabrication Gacem Yellel	*Son	01/04/2011	500
	* Aliment composé	08/03/2011	
	*Maïs	08/03/2011	
	*Tourteaux de soja	21/03/2011	
	*Son	02/04/2011	

2. Analyses physico-chimiques

2.1. Détermination du taux d'humidité relative

*Principe

La détermination de la teneur en eau est effectuée par une dessiccation de l'échantillon dans une étuve réglée à $105 \pm 2^\circ\text{C}$ jusqu'à une masse constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, on opère dans des vases de tare, placés dans un dessiccateur (Nielsen, 2010).

*Mode opératoire

- Une tare en verre est séchée et pesée avec précision ;
- Mettre 05g d'échantillon dans la tare et peser avec précision ;
- Placer l'ensemble dans une étuve à $105 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 3 h ;
- On laisse l'échantillon se refroidir dans un dessiccateur pendant 15 min.
- On pèse une première fois ;
- l'opération est renouvelée jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

*Expression des résultats

Le taux d'humidité relative d'un échantillon est donné par la formule suivante:

$$\% \text{ HR} = \frac{(P_0 - P_t) - (P_1 - P_t)}{(P_0 - P_t)} \times 100$$

HR= humidité relative.

Pt = poids de la tare.

P0 = poids de la tare avec échantillon.

P1 = poids constant après séchage multiple.

2.2. Détermination du pH

Avec une activité de l'eau élevée, les champignons sont en compétition avec les bactéries comme agents d'altération des aliments, et c'est le pH qui joue un rôle décisif (Pitt et Hocking, 2009). Nos échantillons sont subits un analyse pour la détermination du pH on se réfère à la technique suivante :

***Mode opératoire:**

- Broyer 10 g d'échantillon.
- Mélanger 10 g d'échantillon broyé avec 90 ml d'eau distillée.
- Agiter le mélange et laisser le en repos pendant une heure.
- Mesurer du pH à l'aide d'un pH mètre.

3. Analyse mycologique

L'étude de la flore fongique associée à l'alimentation du bétail a été réalisée en appliquant deux méthodes de détection :

- ✚ La méthode directe : la méthode du buvard et La méthode du buvard modifiée.
- ✚ La méthode indirecte : La méthode de dilution.

3.1. La méthode directe

3.1.1. Méthode du buvard et Méthode du buvard modifiée (Limonard, 1966 ; Benkirane, 1995; Hannin *et al.*, 2003).

***Principe**

L'humidité favorise la germination et le développement des champignons, en utilisant le substrat comme source d'énergie, ce qui va mettre en évidence la flore réelle qui peut se développer.

***Mode opératoire pour la Méthode du buvard**

Cette méthode consiste à tester 100 grains de chaque échantillon à raison de 05 grains par boîte de Pétri de 90 mm de diamètre. Ces grains n'ayant subi aucun traitement préliminaire sont placés sur des rondelles de papier filtre (buvard) préalablement stérilisées et humidifiées avec de l'eau distillée stérile. L'incubation des boîtes de Pétri a lieu à une température de 25°C pendant sept jours. Les grains sont ensuite examinés sous la loupe pour observer la présence de champignons.

***Mode opératoire pour la Méthode du buvard modifiée**

Elle consiste à la désinfection superficielle des grains en utilisant l'hypochlorite de sodium (NaCl_2O_3), 100 grains de chaque échantillon, pris au hasard, sont introduits dans l'eau de javel à 6° pendant 3 min, ensuite lavés avec de l'eau distillée stérile trois fois de suite, puis déposés dans des boites de Pétri stériles tapissées de papiers filtres imbibés d'eau distillée stérile à raison de 05 grains par boîte. Les boîtes sont incubées à 25 °C pendant 7 jours.

***Expression des résultats**

- Le pourcentage de grains germés est calculé selon la formule suivante :

$$G (\%) = \frac{N_G}{N_T} \times 100$$

N_T : nombre total de grains par boîte.

N_G : nombre de grains germés.

- Le taux de contamination est estimé selon la formule suivante :

$$C(\%) = \frac{N_2}{N_1} \times 100$$

N_1 : nombre total de grains par boîte.

N_2 : nombre de grains contaminés.

3.2. Méthode de dilution

La méthode de dilution est appropriée pour l'analyse mycologique de liquide ou d'aliments en poudre. Il est également approprié pour les céréales destinées à la fabrication de farine et en d'autres situations dans lesquelles la contamination fongique totale est pertinente (Pitt et Hocking, 2009). Il est généralement possible d'énumérer la boîte avec un maximum de 150 colonies, mais si une forte proportion de croissance des champignons est présente, le nombre maximal sera inférieur (Dante *et al.* , 2004).

***Mode opératoire selon Khosravi *et al.*,(2008) :**

- Mettre 10g d'échantillon dans 90 ml d'eau distillée stérile, additionnée de tween 80 (0.01 %, pour permettre une bonne dispersion).
- Agiter la suspension puis laisser la en repos pendant une heure pour obtenir une dilution de 10^{-1} .
- Inoculer aseptiquement 0,1 ml de la suspension sur le milieu PDA et CDA puis étalé en surface.
- l'incubation se fait à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 5 à 7 jours.
- Isoler les différentes souches.

***Expression des résultats**

La fréquence d'isolement (Fr) et la densité relative (RD) des espèces sont calculées selon Gonzalez *et al.*, (1995) :

$$\text{Fr (\%)} = \frac{\text{Nombre d'échantillons avec une espèce ou d'un genre}}{\text{Nombre totale des échantillons}} \times 100$$

$$\text{RD (\%)} = \frac{\text{Nombre d'isolats d'une espèce ou d'un genre}}{\text{Nombre total de champignons isolés}} \times 100$$

Le taux de contamination est calculé selon VDLUFA, (2007) :

$$N = \frac{\sum C}{V \times n \times d}$$

- N** = nombre d'unités formants colonies par gramme d'échantillon (UFC/g).
- $\sum C$ = la somme de toutes les colonies des boîtes de comptage.
- V** = le volume de dilution étalé par boîte en ml.
- n** = nombre des boîtes qui peuvent être évaluées.
- d** = facteur de dilution.

4. Identification des moisissures

L'identification d'une espèce fongique repose sur l'analyse de critères culturaux (température et vitesse de croissance, milieux favorables) et morphologiques. Ces derniers sont constitués des paramètres macroscopiques (aspect des colonies, de leur revers) et microscopique (aspect du mycélium, des spores, des phialides, des conidiophores) (Tabuc, 2007).

4.1. Identification des genres

Cette technique se base sur l'inoculation des spores des moisissures sur des lames menées de petits carrés de CDA solidifiés et les recouvrir par des lamelles (Ramirez, 1982). Les spores sontensemencées sur les limites périphériques du milieu. L'ensemble est conditionné dans une chambre stérile et humide puis incubée à 25 °C pendant 3 à 5 jours. Après incubation, les lamelles aux quelles s'adhèrent le mycélium sont, transférées sur

d'autres lames stériles contenant quelques gouttes de lactophénool pour l'observation microscopique aux grossissements $\times 10$, $\times 40$, $\times 100$ (Harris, 1986). Les genres sont déterminés par les caractères cultureux et microscopiques en se référant au manuel de Barnett, (1998) et à la clé de Botton, (1990).

4.2. Identification des espèces du genre *Aspergillus* et *Penicillium*

L'identification des espèces d'*Aspergillus* et *Penicillium* est réalisée par la technique de Pitt et Hoching, (2009) et Ramirez, (1982). Elle consiste à inoculer un tube à hémolyse remplie 2/3 de son volume d'agar 0,2% et deux gouttes de Tween 80. Après agitation du tube, des gouttes de cette suspension sont déposées sur les milieux.

4.2.1. Identification des espèces d'*Aspergillus*

Elle se fait sur trois milieux différents qui sont :

- Malt Extract Agar (M.E.A) à 25 °C,
- Glycérol Nitrate Agar (G25N) à 25 °C,
- Czapek Yeast Agar (C.Y.A) à deux températures différentes : 5°C et 37°C.
- une confirmation des souches présumées *Aspergillus flavus* , *Aspergillus parasiticus* est faite par une inoculation sur le milieu AFAP à 25°C. Ce dernier donne un revers de culture orange caractéristique à ce groupe.

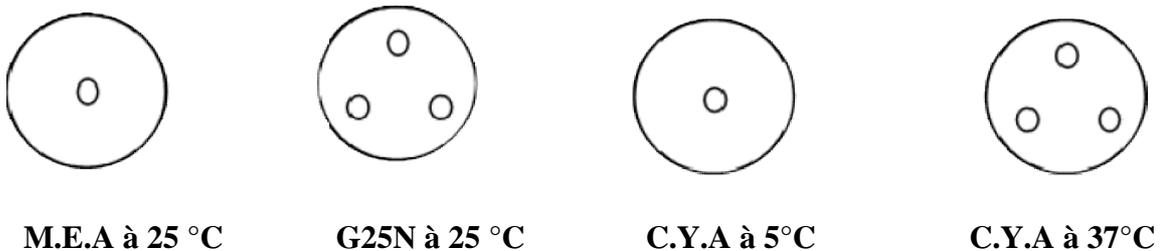


Figure 3.1: Type d'inoculation des différents isolats d'*Aspergillus*.

4.2.2. Identification des espèces de *Penicillium*

Elle se fait sur quatre milieux différents qui sont :

- Czapek Dextrose Agar (C.D.A) à 25 °C,
- Malt Extract Agar (M.E.A) à 25 °C,
- Glycérol Nitrate Agar (G25N) à 25 °C,
- Czapek Yeast Agar (C.Y.A) à 25°C.

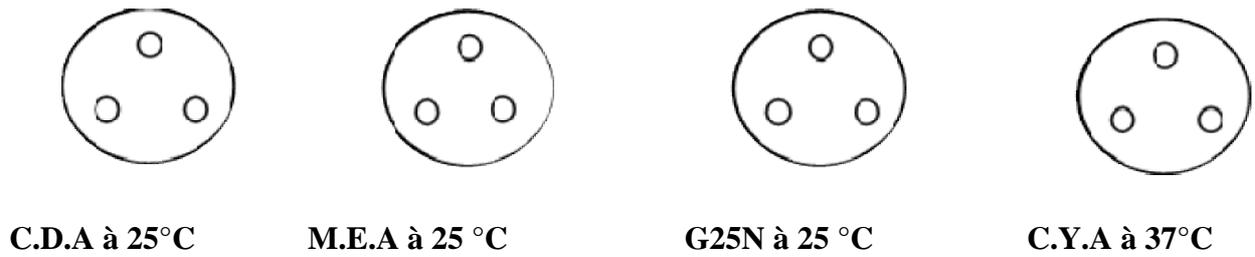


Figure 3.2: Type d'inoculation des différents isolats de *Penicillium*.

La lecture se fait après 07 et 14 jours en se référant aux clefs d'identification de Pitt et Hocking, (2009) et Ramirez (1982).

5. Analyses mycotoxique

5.1. Recherche des souches productrices d'aflatoxines

Toutes les souches d'*Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus* identifiées à partir des prélèvements analysés sont cultivées sur milieu P.D.A pendant 5 jours à 25 °C et sont soumises aux analyses mycotoxique.

5.1.1. Ensemencement sur milieu Y.E.S

Les souches d'*Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus* sont réensemencées sur milieu YES (Yeast Extract Sucrose) (Davis et al., 1966), Le milieu YES est facile à préparer, relativement peu coûteux, et est adapté pour la production des niveaux plus élevés d'aflatoxine que les d'autres médias. Pour ces raisons, le milieu YES apparaît apte pour le dépistage de la capacité des champignons à produire des aflatoxines. L'incubation se fait à 25 °C pendant 14 jours (Davis et al., 1966).

5.1.2. Analyse par la chromatographie sur couche mince (C.C.M)

5.1.2.1. Extraction des aflatoxines

Extraction de cette mycotoxine se fait après 14 jours d'incubation, par élimination de la biomasse formée en filtrant le milieu YES à travers du papier filtre, 50 ml du filtrat obtenu est additionné à 180 ml de chloroforme (Nagy et Loutfy, 2002), l'ensemble est vigoureusement agité pendant 30 min, on laisse ensuite le mélange décanté en utilisant une ampoule à décantation. La phase chloroformique ainsi obtenue est filtrée sur un papier filtre plissé puis passée dans le rotavapor jusqu'à l'obtention d'un volume de 2 à 3 ml (**Figure 3.3**).

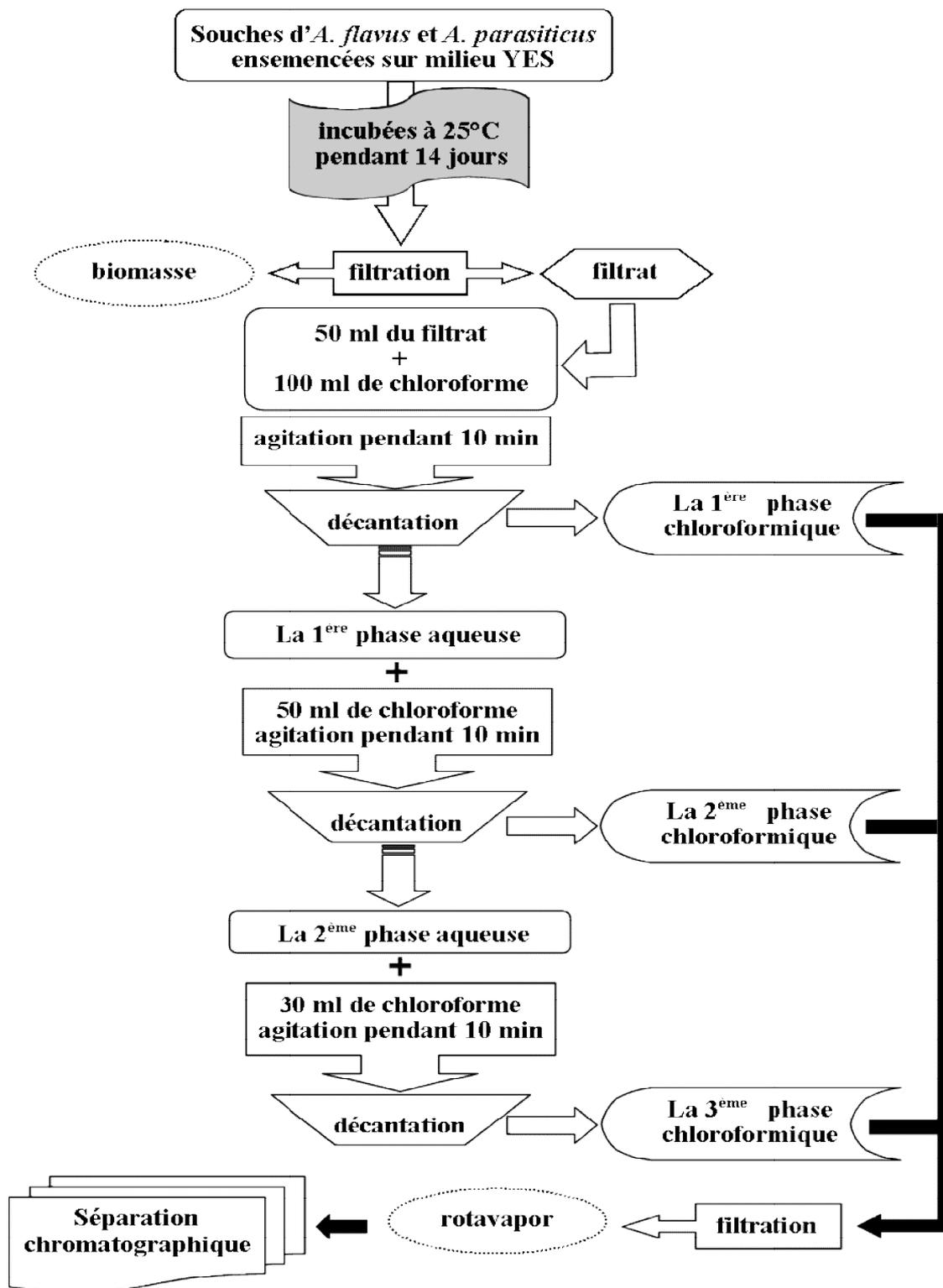


Figure 3.3 : les étapes analytiques de la recherche des souches d'*A.flavus* et *A.parasiticus* productrices d'aflatoxines.

5.1.2.2. Séparation chromatographique

Elle se fait sur une plaque de sélicagel sur laquelle sont déposés deux spots de 20 µl et 40 µl de chaque extrait à analyser et 5 µl de chaque solution standard d'aflatoxines. La plaque est ensuite placée dans une cuve chromatographique et trempée dans un solvant d'élution constitué de Toluène, Acétaldéhyde et acide formique de volume (5, 4, 1) respectivement (Betina, 1993). Après migration et évaporation du produit d'élution à sec à l'aide d'un évaporateur, la plaque est examinée sous UV à 365 nm (Nagy et Loutfy, 2002).

5.2. Détection des aflatoxines au niveau du substrat

5.2.1. Extraction des aflatoxines et des ochratoxines

Afin d'extraire les mycotoxines, 50 g de chaque échantillon est broyé puis additionné à 100 ml du solvant (chloroforme – méthanol V/V) (Betina, 1993), le mélange est agité pendant 10 minutes, la phase liquide est séparée du culot par filtration. Cette opération est répétée en additionnant successivement 50 et 30 ml du solvant au culot récupéré à chaque fois après filtration. Ensuite, le filtrat est concentré jusqu'à un volume de 2 à 3 ml par évaporation au rotavapor. Cependant, l'extrait est étalé sur un gel d'agar à 2 % et à pH 7 coulé préalablement sur boîtes de pétri puis solidifié. Les boîtes sont laissées entrouvertes afin de permettre l'évaporation du solvant d'extraction, puis elles sont gardées à 4°C pendant 24 heures (**Figure 3.4**).

Après la diffusion des mycotoxines à l'intérieur de la gélose, sa surface est essuyée à plusieurs reprises avec du papier filtre imbibé d'hexane pour éliminer les macromolécules de matière organique. Le gel d'agar est ensuite coupé en petits carreaux et mélangé avec 100 ml de chloroforme, le tout est agité pendant 10min puis filtré. Par ailleurs, le culot est additionnée ensuite à 50 et 30 ml de chloroforme et agité à chaque fois qu'il est récupéré après filtration. Le filtrat obtenu est également concentré à l'aide d'un rotavapor, puis subit une séparation par CCM.

5.2.2. Séparation chromatographique

La séparation chromatographique pour la recherche des aflatoxines et de l'ochratoxine au niveau du substrat est réalisée de la même façon que pour les souches productrices.

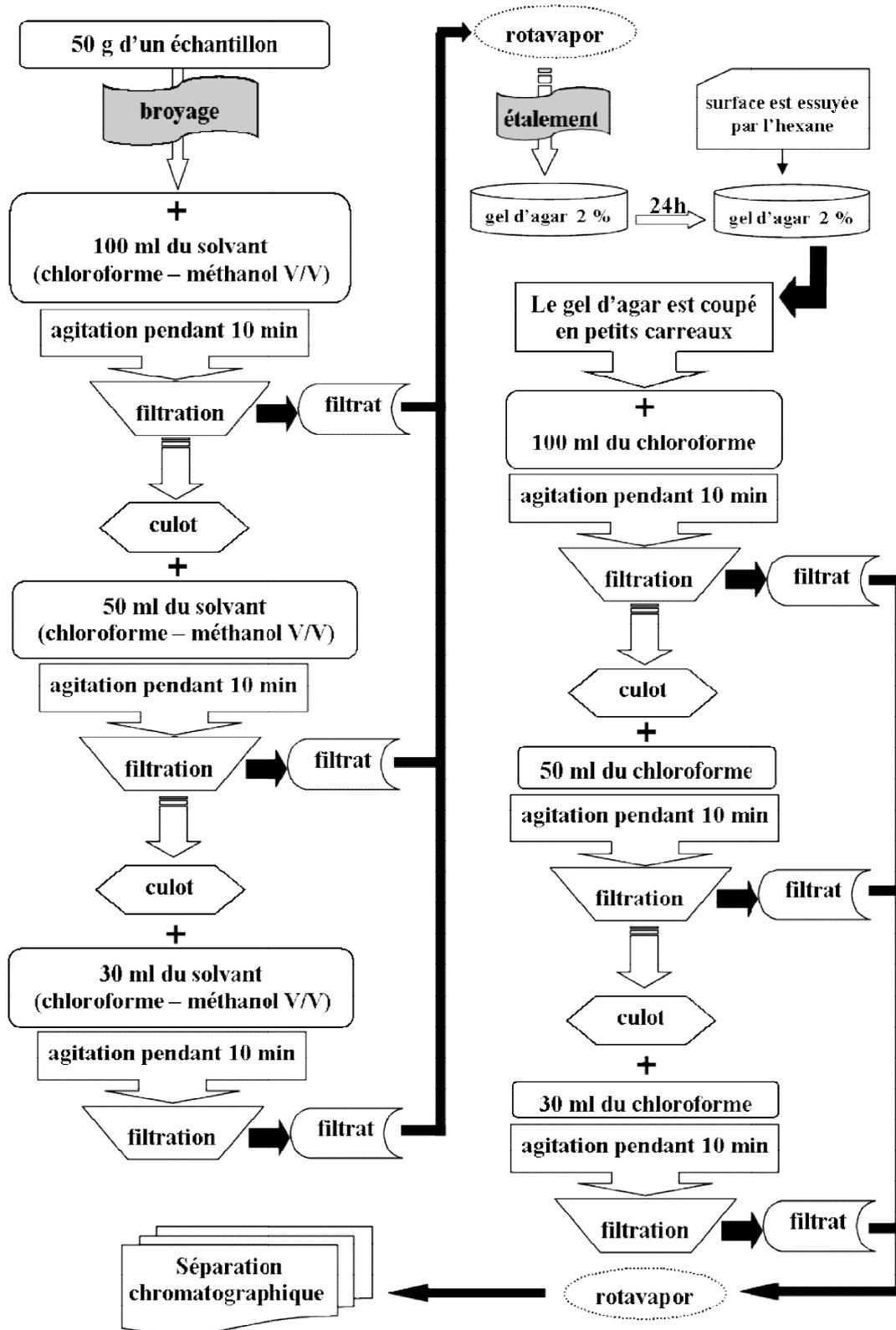


Figure 3.4 : les étapes analytiques de la détection des aflatoxines au niveau du substrat.

6. Analyses statistiques

Nos résultats sont traités par le logiciel «Excel STAT 2007» et le programme «SIGMASTAT 3.5 ». Quartes paramètres sont utilisés pour analyser ces résultats : l'écart type, qui est une mesure de la dispersion, Le coefficient de corrélation simple qui est une mesure de l'intensité de la relation (indépendance) linéaire entre deux variables aléatoires, Ainsi, que le test ANOVA et le test de la régression linéaire.

1. Analyses physicochimiques

1.1. Humidité relative

L'analyse concernant l'humidité relative, révèle que tous nos échantillons (Maïs, Tourteaux de soja, Son et Aliment composé) sont peu hydratés, les valeurs moyennes de l'humidité relative s'échelonnent généralement entre 07,25 % et 13,02 %. Une forte corrélation entre l'humidité relative et le taux de contamination des échantillons a été repérée pour l'aliment composé où le coefficient de corrélation $r = 0,93$, et avec moins de degré pour le maïs, tourteaux de soja et le son, dont les coefficients de corrélation étaient égales à 0,74, 0,79 et 0,75 respectivement.

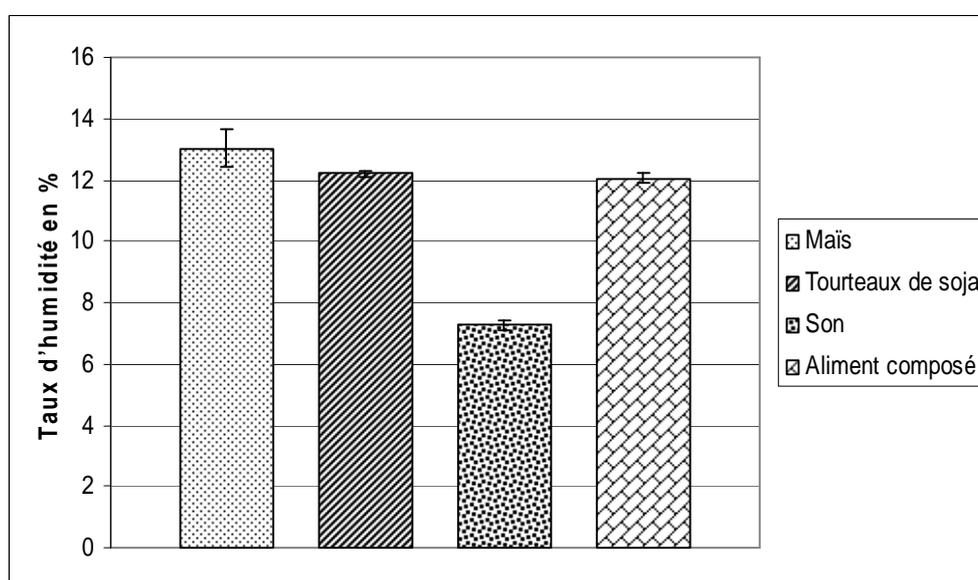


Figure 4.1 : Taux d'humidité relative des différents échantillons de maïs, tourteaux de soja, son, et Aliment composé exprimé en pourcentage (Valeurs exprimées en moyenne \pm S).

1.2. Le pH

Les résultats du pH des différents échantillons analysés (Maïs, Tourteaux de soja, son et Aliment composé), indiquent que l'ensemble des échantillons sont légèrement acide avec des valeurs comprises dans l'intervalle (5,94 et 6,91). La corrélation entre le taux de contamination et le pH des échantillons du maïs révèle une dépendance négative (le coefficient de corrélation $r = -0,75$), mais cette dépendance était faible pour l'aliment composé ($r = -0,59$) et le son ($r = -0,17$).

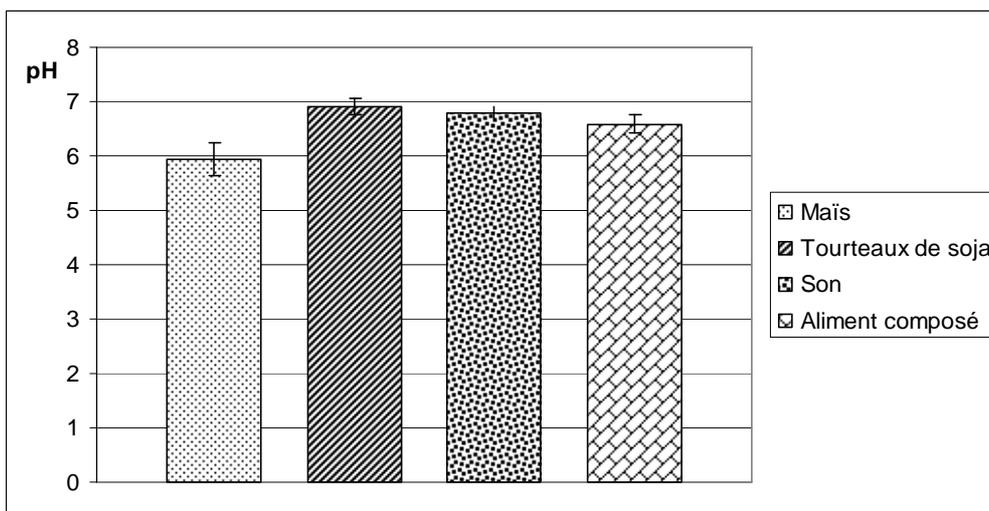


Figure 4.2 : le pH de différents échantillons de maïs, tourteaux de soja, son, et l'aliment composé des bétails (Valeurs exprimées en moyenne \pm S).

2. Résultats de la méthode du buvard et méthode du buvard modifiée

2.1. Taux de germination

Les résultats relatifs à la germination, montrent que le taux de germination des échantillons analysés selon la méthode du buvard modifiée est plus élevé que celui du buvard, et avec une moyenne de 60,37%. Le taux de germination révélé par la méthode du buvard était 42,62%, et avec une moyenne totale entre les deux méthodes de 54,52%. Ainsi, une corrélation négative entre le taux de germination et le taux de contamination a été repérée on se basant sur les résultats notés pour les deux méthodes.

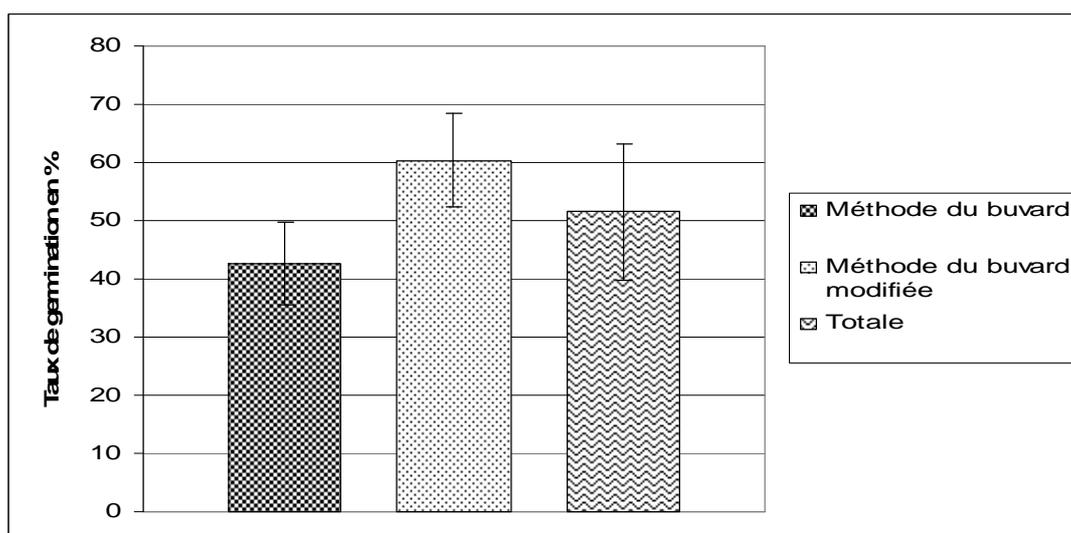


Figure 4.3 : Taux de germination des échantillons de maïs analysés par la méthode du buvard et méthode du buvard modifiée exprimé en pourcentage (Valeurs exprimées en moyenne \pm S).

2.2. Taux de contamination

Les résultats de l'analyse des différents échantillons de maïs par la méthode directe montre que le taux de contamination obtenue par la méthode du buvard est plus élevé que celui obtenue par la méthode du buvard modifiée.

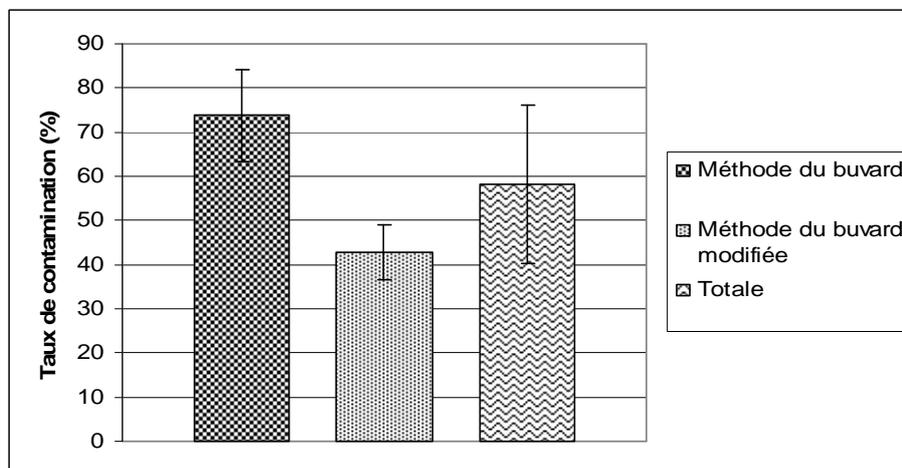


Figure 4.4 : Taux de contamination des échantillons de maïs analysés par la méthode du buvard et méthode du buvard modifiée exprimé en pourcentage (Valeurs exprimées en moyenne \pm S).

2.3. La fréquence d'isolement des genres

2.3.1. La fréquence d'isolement des genres par la méthode du buvard

La fréquence de la flore fongique révélée par la méthode du buvard est caractérisée par la contamination de tous les échantillons par le genre *Rhizopus* (100%), Ainsi par la dominance du genre *Aspergillus* et le genre *Fusarium* qui contaminent 87,50% des échantillons, et finalement le genre *Penicillium* devient avec une fréquence de 75 %.

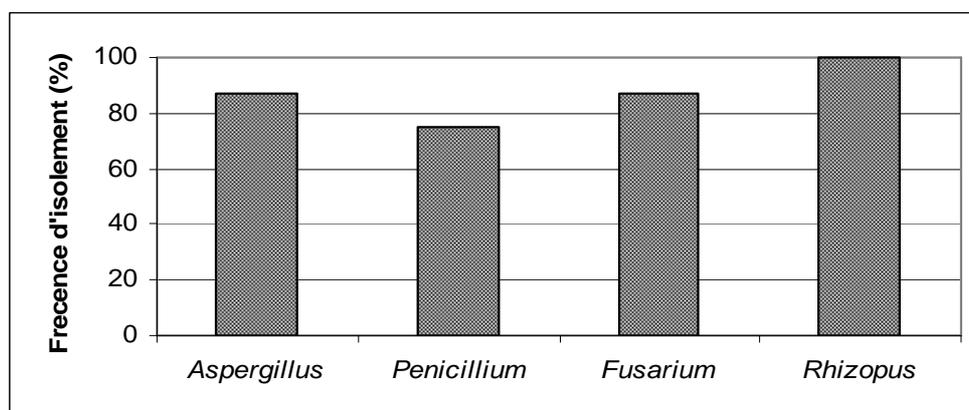


Figure 4.5 : Fréquence d'isolement des genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, et *Rhizopus* dans les échantillons de maïs analysé par la méthode du buvard.

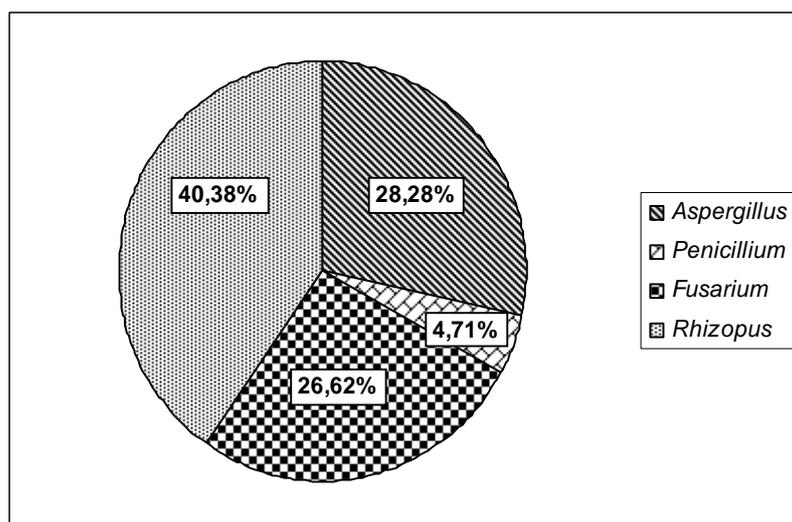


Figure 4.6 : La densité relative des genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, et *Rhizopus* dans les échantillons de maïs analysé par la méthode du buvard.

2.3.2. La fréquence d'isolement des genres par la méthode du buvard modifiée

Avec la méthode du buvard modifiée, on notant une forte diminution de la fréquence du genre *Rhizopus* (12,50 %), et une augmentation pour le genre *Fusarium* avec un pourcentage qui atteint 87,50 %.

Concernant le genre *Aspergillus* et le genre *Penicillium*, on ne remarque pas une grande modification dans les pourcentages de la densité relative par rapport la méthode du buvard, mais les taux de contamination et les fréquences d'isolements générales se diminuent.

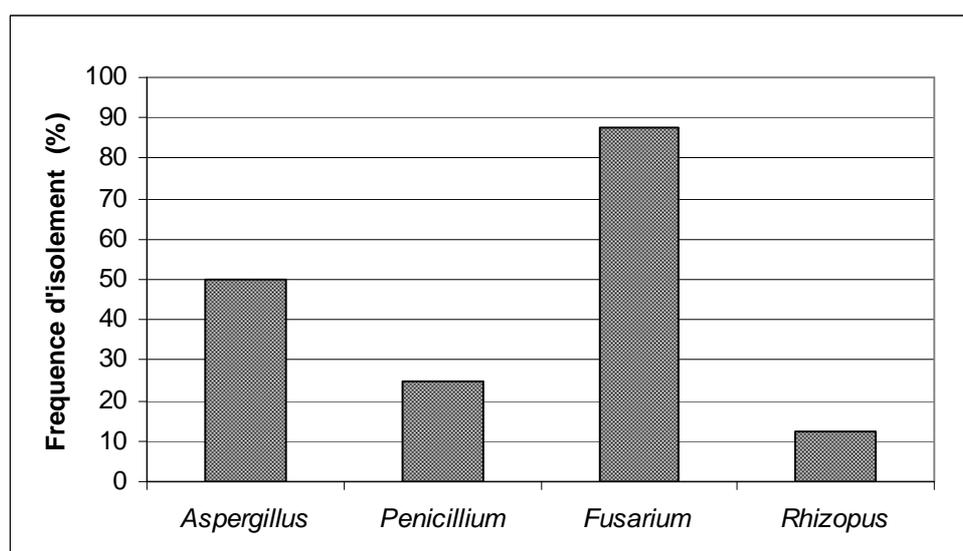


Figure 4.7 : Fréquence d'isolement des genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, et *Rhizopus* dans les échantillons de maïs analysé par la méthode du buvard modifiée.

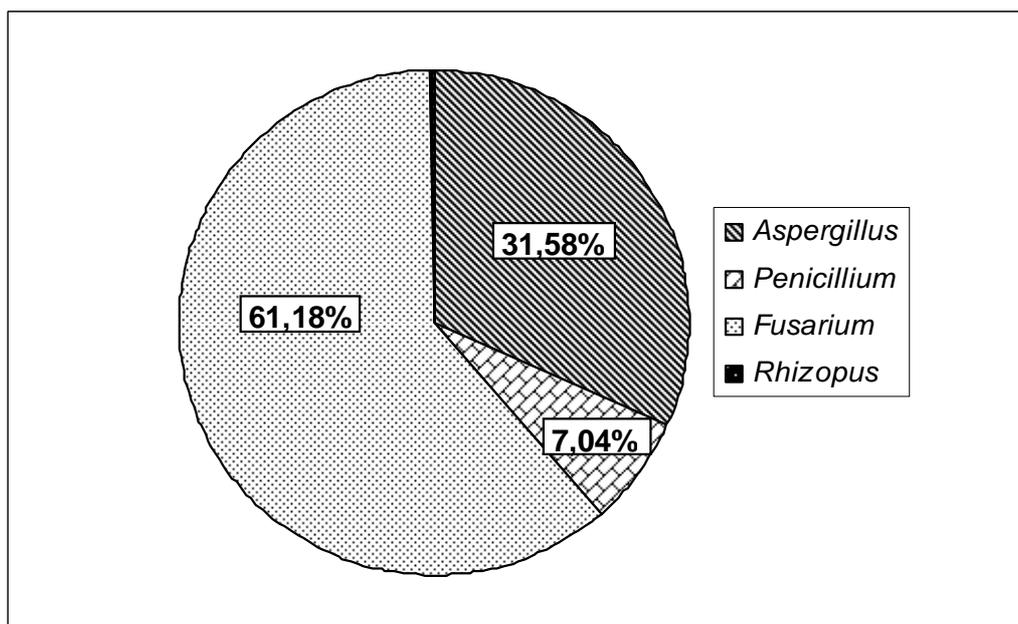


Figure 4.8 : La densité relative des genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, et *Rhizopus* dans les échantillons de maïs analysés par la méthode du buvard modifiée.

3. Résultats de la méthode de dilution

L'exploitation des résultats obtenus par cette méthode permet l'appréciation du degré de pollution (Taux de contamination), tout en donnant une image sur la flore contaminant de tous nos échantillons.

3.1. Le maïs

La charge fongique totale, ainsi que les différentes souches fongiques apparues par la méthode de dilution pour les échantillons de maïs ($\times 10^2$ UFC/g) témoignent d'un taux de contamination par une flore fongique élevée. Ce taux est de l'ordre $40,07 \times 10^2$ UFC/g. Les genres les plus dominants sont respectivement, *Aspergillus* ($18,90 \times 10^2$ UFC/g), *Penicillium* ($08,80 \times 10^2$ UFC/g), et *Fusarium* ($07,22 \times 10^2$ UFC/g) qui correspondent aux fréquences suivantes : 46,34%, 21,96%, 18,01%, respectivement. Les principales espèces d'*Aspergillus* sont *Aspergillus flavus* ($12,61 \times 10^2$ UFC/g), *Aspergillus niger* ($12,61 \times 10^2$ UFC/g), et *Aspergillus clavatus* ($12,61 \times 10^2$ UFC/g), concernant le genre *penicillium*, la dominance était pour *Penicillium verruculosum* ($04,40 \times 10^2$ UFC/g) et *Penicillium rugulosum* ($02,01 \times 10^2$ UFC/g). Le genre *Rhizopus*, qui est un témoin du mauvais stockage était présent avec un taux de contamination allant de $01,91 \times 10^2$ UFC/g à $08,36 \times 10^2$ UFC/g.

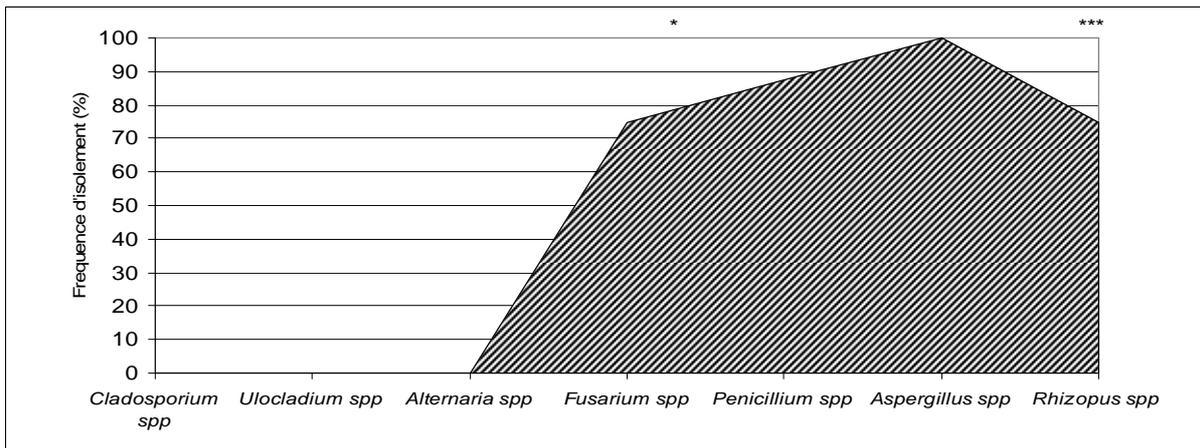


Figure 4.9 : La fréquence d'isolement de moisissures à partir des échantillons du Maïs ; différence significative (***: $p < 0.001$), (* : $p < 0,05$).

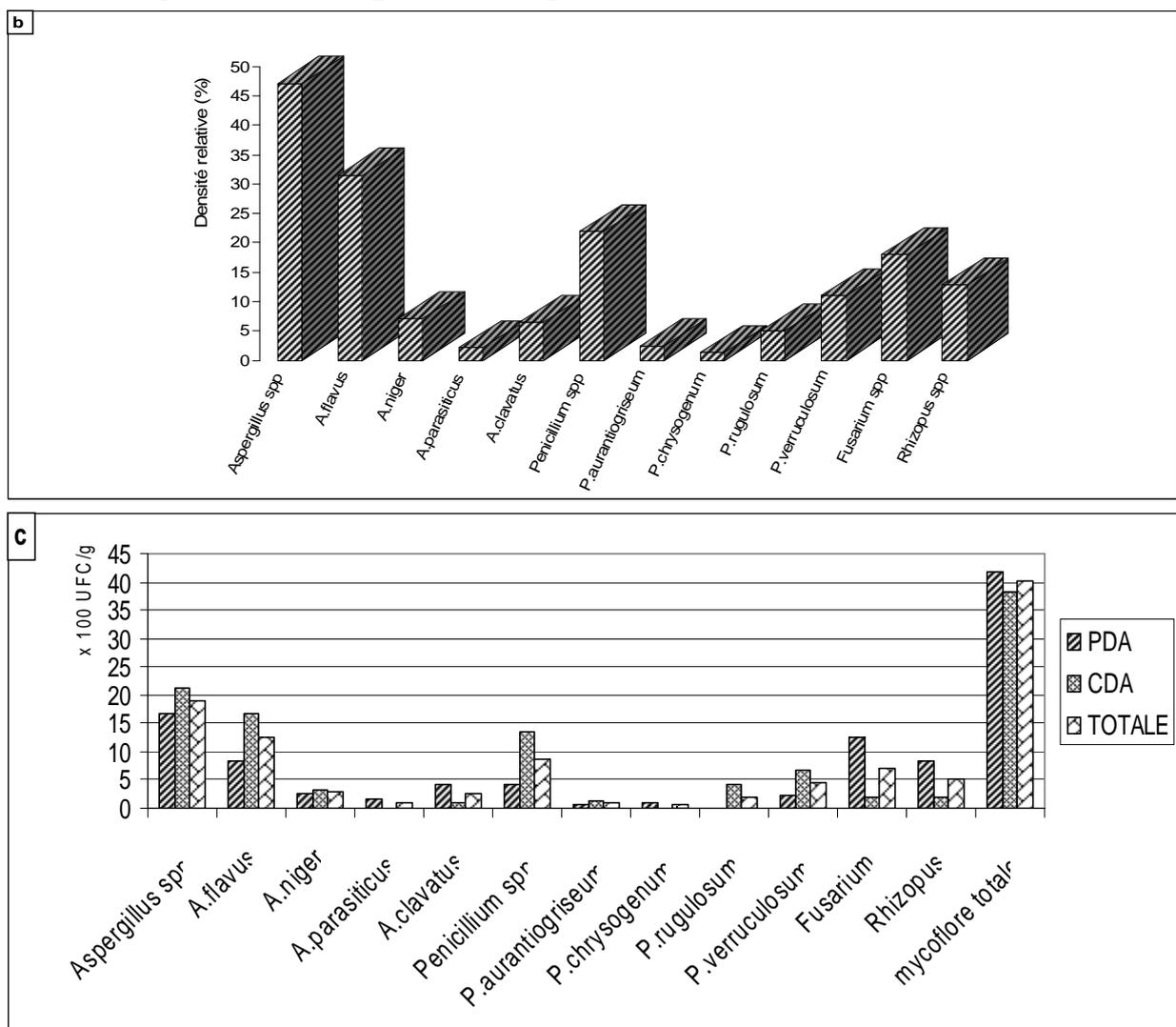


Figure 4.10: Les paramètres calculés pour l'analyse mycologique du Maïs par la méthode de dilution ; (a) : La densité relative ; (b) : Taux de contamination exprimés en moyenne $\times 10^2$ UFC/g.

3.2. Tourteaux de soja

La méthode de dilution révèle à un taux de contamination relativement faible pour les tourteaux de soja ($19,43 \times 10^2 \text{UF/g}$) en comparaison avec les autres ingrédients. La fréquence d'isolement des moisissures montre la présence essentiellement quatre genres, 75 % des échantillons sont révélés contaminés par le genre *Aspergillus* et le genre *Penicillium*. La dominance du genre *Aspergillus* est nettement clair, dont le taux de contamination était de ($10,47 \times 10^2 \text{UF/g}$), avec un pourcentage de 53,88%, ce genre était représenté par trois espèces (*A.flavus*, *A.niger*, *A. clavatus*).

La densité relative du genre *penicillium* est élevée (44,67%) par rapports aux autres ingrédients, avec la présence de cinq espèces (*P.aurantiigriseum*, *P.chrysogenum*, *P.crustosum*, *P.griseofulvum*, *P.rugulosum*) (Figure 4.11). Les autres genres révélés dans les échantillons des tourteaux de soja sont essentiellement deux genres, *Alternaria* avec un taux de contamination de $00,09 \times 10^2 \text{UF/g}$ (00,46%) et *Rhizopus* ($00,18 \times 10^2 \text{UF/g}$).

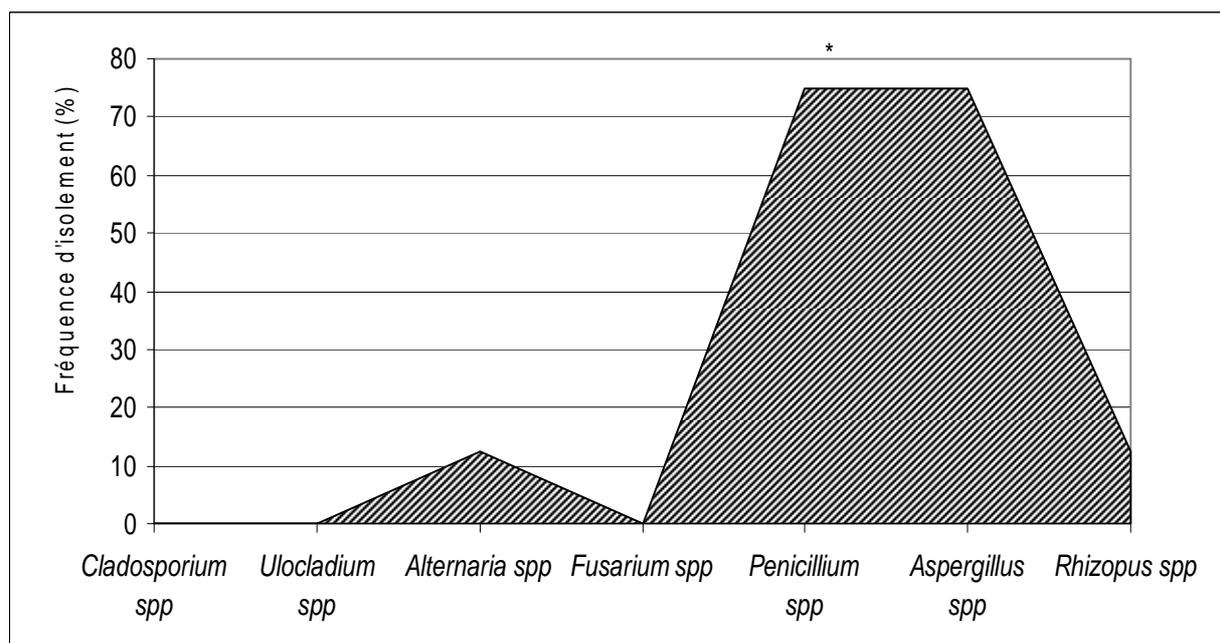


Figure 4.11: La fréquence d'isolement de moisissures à partir des échantillons du Tourteaux de soja ; différence significative (* : $p < 0,05$).

Remarque : l'analyse mycologique des échantillons des tourteaux de soja par la méthode de dilution, montre des charges assez élevées par les levures, surtout à la dilution 10^{-1} et sur le milieu PDA.

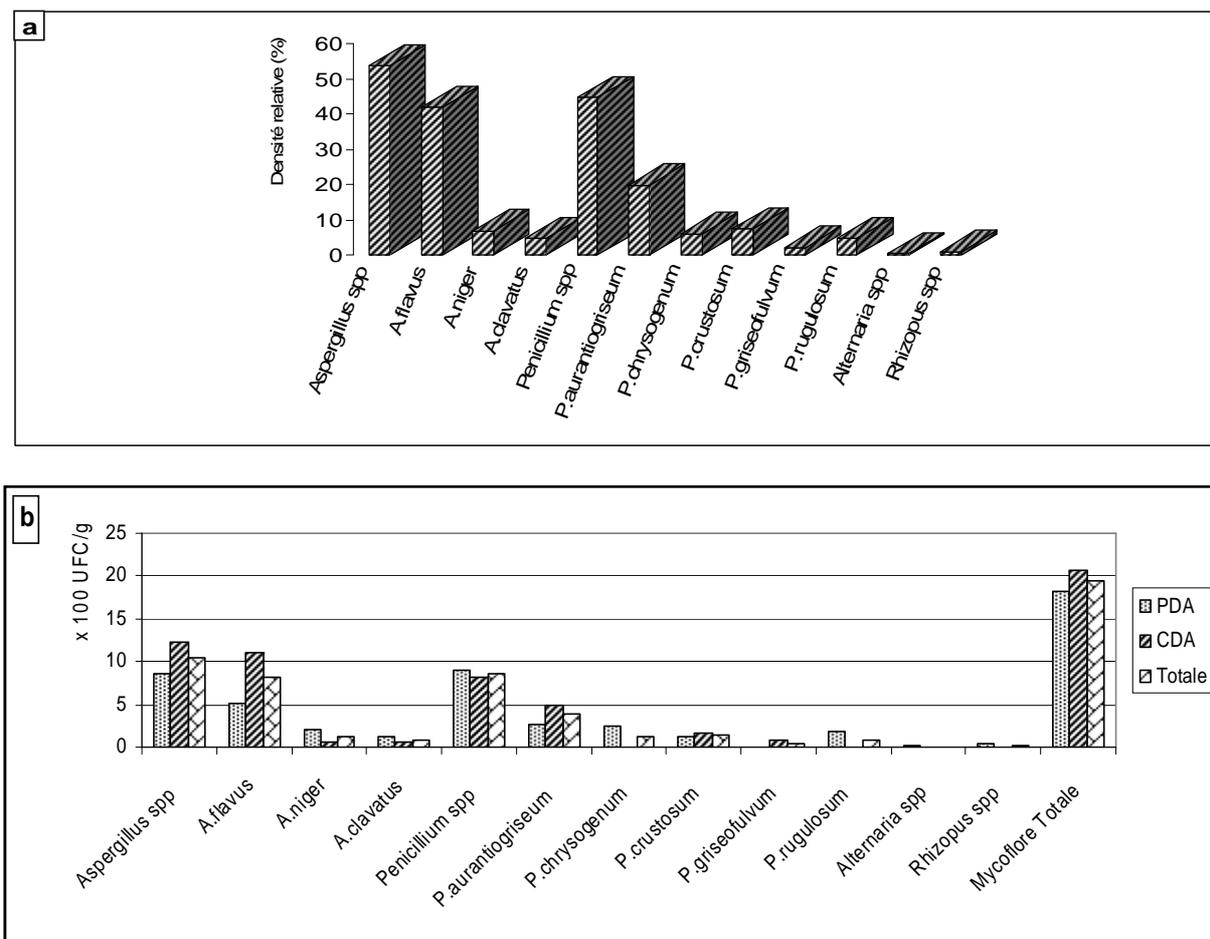


Figure 4.12: Les paramètres calculés pour l'analyse mycologique du Tourteaux de soja par la méthode de dilution ; (a) : La densité relative ; (b) : Taux de contamination exprimées en moyenne $\times 10^2$ UFC/g.

3.3. Son

La lecture des moyennes du taux de contamination ainsi que les différentes souches fongiques isolées à partir des échantillons du son, nous indiquent que la mycoflore totale a une valeur moyenne de (23,97 $\times 10^2$ UFC/g). L'étude de la fréquence d'isolement des moisissures, montre la présence de six genres figurés par *Aspergillus* (87,5%), *Penicillium* (37,5%), *Cladosporium* (25%), *Ulocladium* (37,5%), *Alternaria* (50%), *Rhizopus* (25%), mais en revanche on note l'absence du genre *Fusarium* sur la totalité des échantillons du son. Concernant la mycoflore spécifique, la dominance était pour le genre *Aspergillus* (13,06 $\times 10^2$ UFC/g) avec une densité relative de 54,48%, en tenant cinq espèces (*A.niger*, *A.flavus*, *A.ochraceus*, *A.fumigatus*, *A.clavatus*), suivi du genre *Penicillium* (03,10 $\times 10^2$ UFC/g) et une densité relative de 12,93%, avec quatre espèces (*P.griseofulvum*, *P.chrysogenum*, *P.crustosum*, *P.aurantiogriseum*). On a enregistré ainsi la présence des genres *Cladosporium* (02,67%), *Ulocladium*, *Alternaria* (10,68%) et *Rhizopus* dans les échantillons du son.

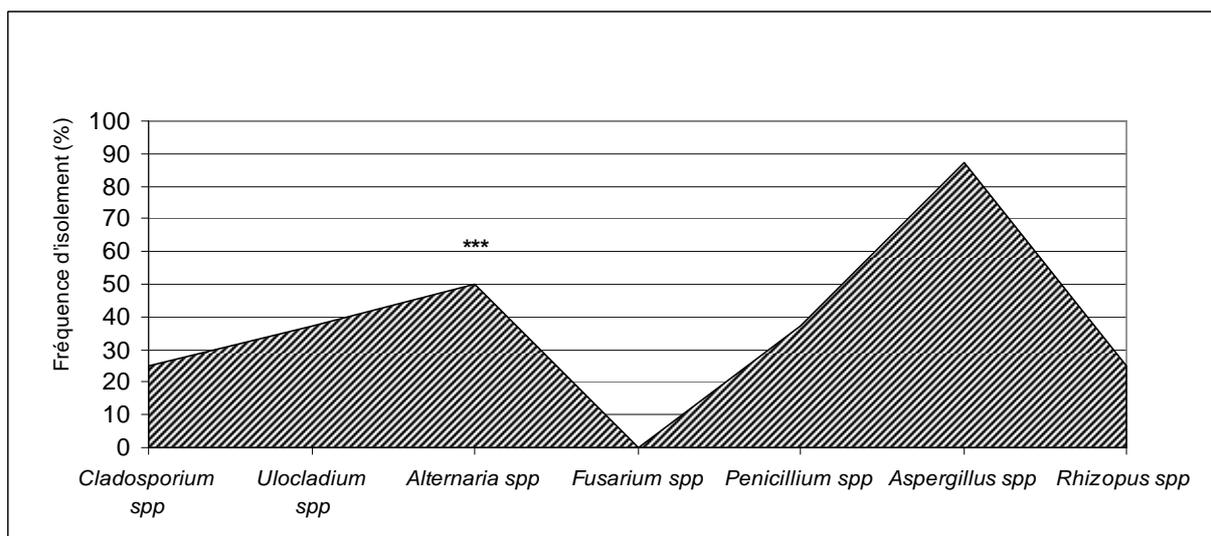


Figure 4.13 : La fréquence d'isolement de moisissures à partir des échantillons d'aliment composé ; différence significative (***: $p < 0.001$).

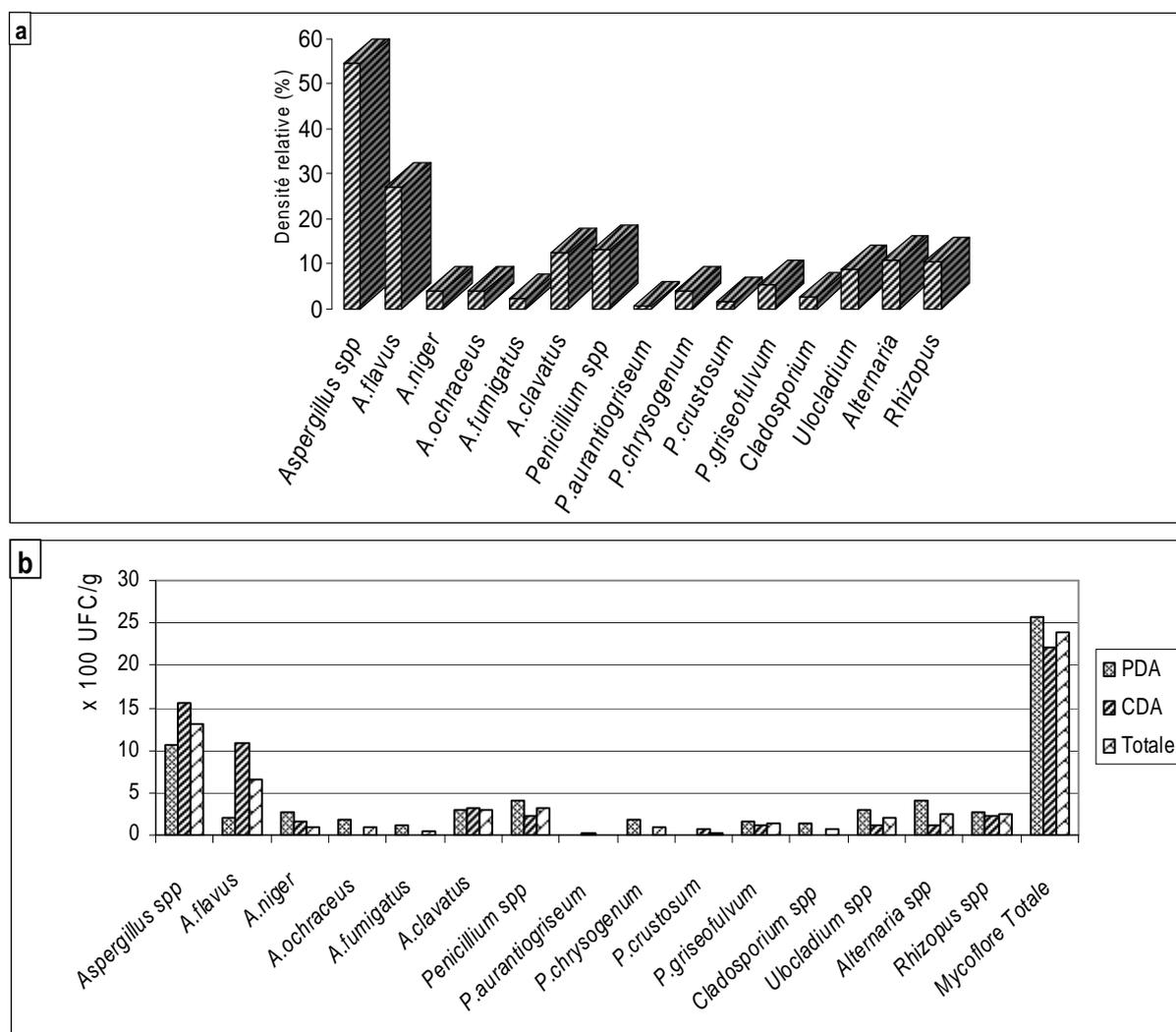


Figure 4.14: Les paramètres calculés pour l'analyse mycologique du Son par la méthode de dilution ; ((a) : La densité relative ; (b) : Taux de contamination exprimées en moyenne $\times 10^2$ UFC/g.

3.4. Aliment composé

Au terme de l'analyse mycologique et biodiversité fongique, six genres différents ont été isolés et identifiés à partir des échantillons de l'aliment composé analysés. Ainsi, le genre *Aspergillus* est représenté par cinq espèces différentes, le genre *Penicillium* représenté par quatre isolats différents. Les autres genres sont de moins fréquence et représentés par *Ulocladium*, *Rhizopus*, *Fusarium*, et *Alternaria*. Toutefois, la comparaison entre l'aliment composé et les ingrédients premiers montre des charges potentielles différentes. l'aliment composé était plus chargée, avec une moyenne de $56,39 \times 10^2$ UFC/g, c'est le genre *Aspergillus* (avec cinq espèces) qui est le plus fréquent (58,25%), avec un taux de contamination de $32,85 \times 10^2$ UFC/g, le genre *Penicillium* est présent avec un taux de $13,20 \times 10^2$ UFC/g (12,93%).Cependant, les espèces *A.flavus*, *A.clavatus*, *A.niger* et *P. verruculosum* s'étaient les plus dominantes. D'après l'analyse mycologique, il y a une disparition de certaines espèces fongiques (*Penicillium griseofulvum*, *Penicillium rugulosum*, *Cladosporium spp*), et l'apparition d'autre (*A.terreus*), en passant des ingrédients premières vers l'aliment composée. Concernant la fréquence d'isolements, la totalité des échantillons sont révélés contaminés par le genre *Aspergillus* et le genre *Penicillium* (100%), cependant la fréquence du genre *Rhizopus* ne dépasse pas 37,5%, à savoir que le Maïs représente la majeure partie de l'aliment composé. Ainsi la flore du champ s'était évoqué par le genre *Fusarium*, et le genre *Alternaria*.

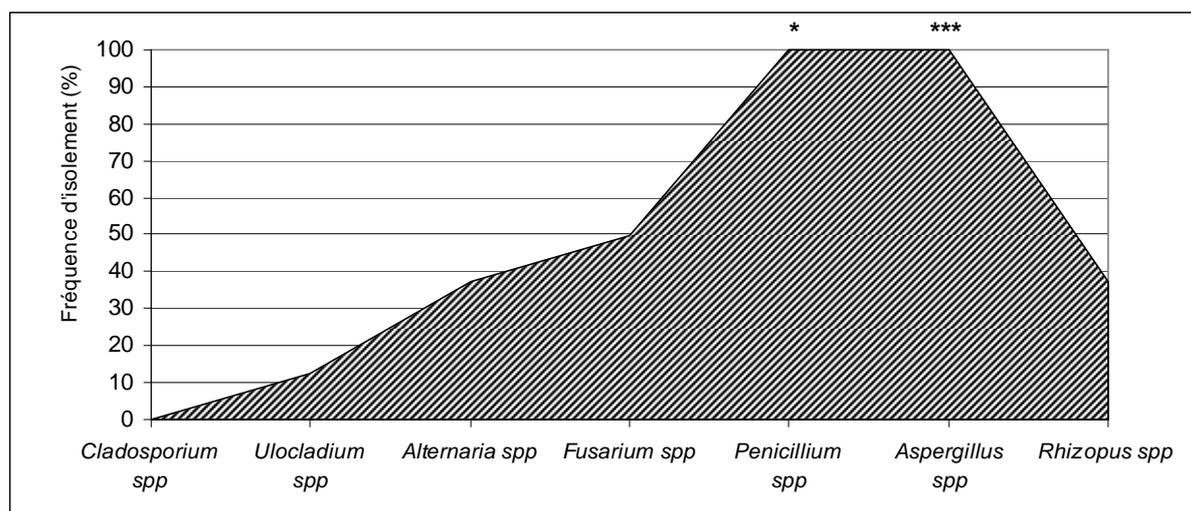


Figure 4.15 : La fréquence d'isolement de moisissures à partir des échantillons d'aliment composé ; différence significative (***: $p < 0.001$), (* : $p < 0,05$).

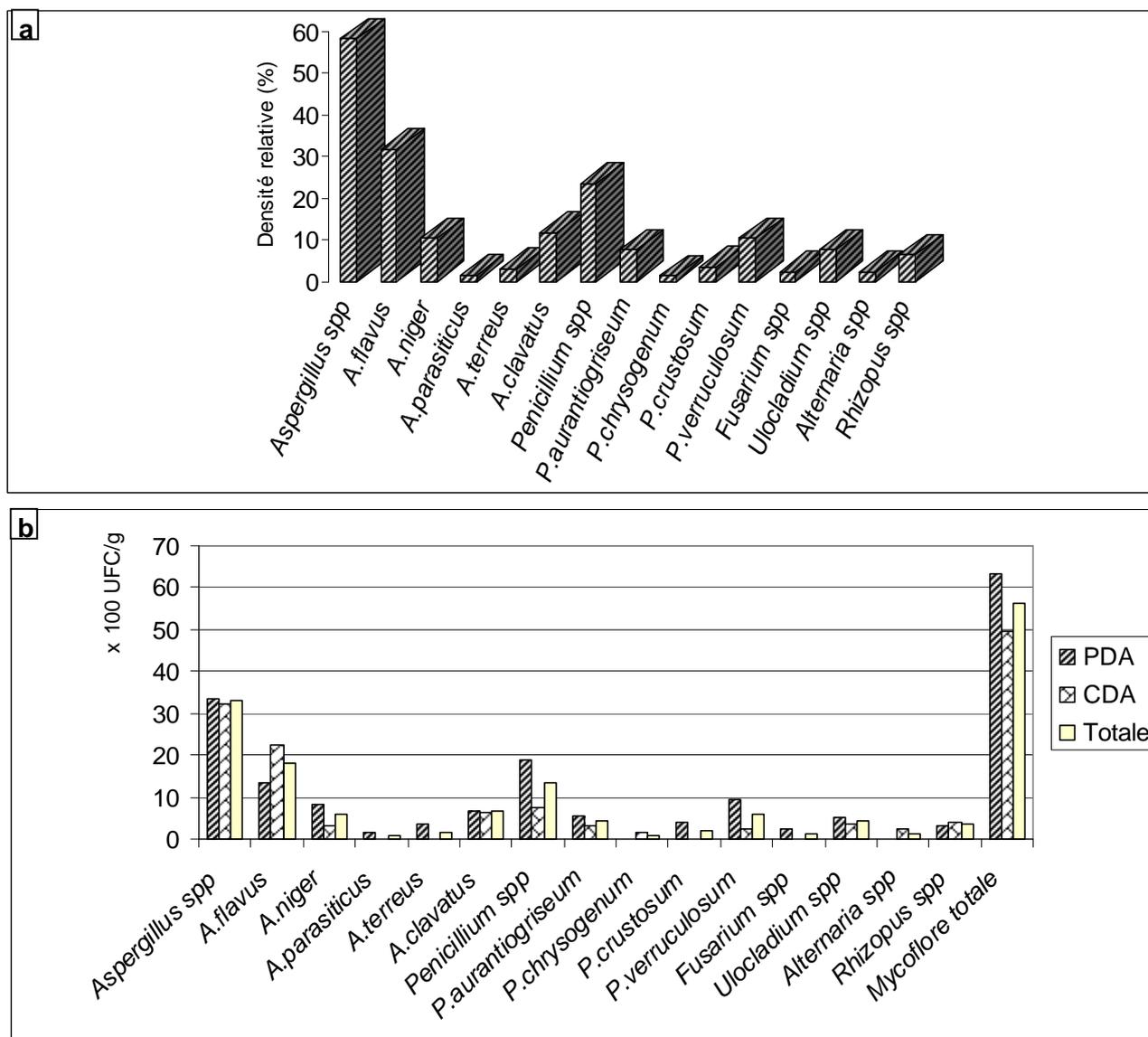


Figure 4.16: Les paramètres calculés pour l'analyse mycologique de l'aliment composé par la méthode de dilution ; (a) : La densité relative ; (b) : Taux de contamination exprimées en moyenne $\times 10^2$ UFC/g.

3.5. Test de Régression

Une analyse de régression où la variable d dépendante Y dépend linéairement de plusieurs variables indépendantes X_1, X_2, \dots, X_k est appelée régression linéaire multiple. L'équation de régression linéaire multiple est de la forme : $Y = f(X_1, X_2, \dots, X_k)$ où $f(X_1, X_2, \dots, X_k)$ est une fonction linéaire de X_1, X_2, \dots, X_k (Dodge, 2007).

La méthode de la régression donne une idée de la façon dont varie en moyenne la variable « y », dite dépendante, en fonction de la variable x, dite indépendante. De ce fait, la recherche d'une telle relation fait appel à une procédure de régression multiple à des variables explicatives (pH et HR).

➤ L'équation de régression :

$$Y = \text{Taux de contamination} = 102.136 + (1.691 * \text{HR}) - (13.112 * \text{pH})$$

R² : le coefficient de détermination=0.528

Ce coefficient nous indique que l'équation de régression reflète parfaitement la corrélation entre les moisissures et les paramètres physico-chimiques, plus il se rapproche du 1 l'équation de régression est utile pour l'estimation de la variable et plus il se rapproche du 0 l'équation ne sert pas à estimer la valeur de y (voir annexe 14).

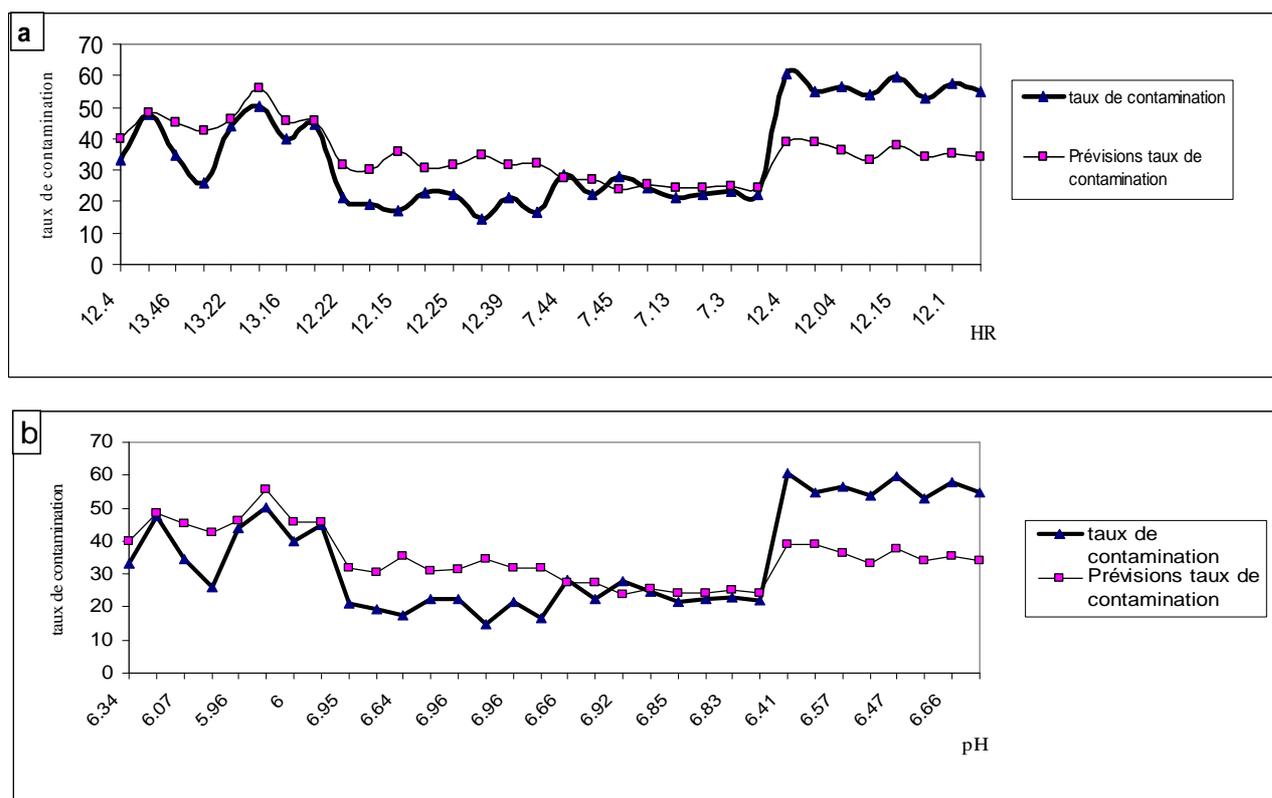


Figure 4.17 : Comparaison des taux de moisissures réel et estimés suivant la loi d'ajustement calculé par le modèle de régression linéaire multiple ; (a) : Courbe de régression du HR ; (b) : Courbe de régression pH.

4. L'identification des espèces du genre *Aspergillus* et genre *Penicillium*

4.1. Identification les espèces du genre *Aspergillus*

Suite à l'inoculation sur les milieux standards d'identification et en se référant aux clefs d'identification de Pitt et Hocking (2009), on a pu identifier les espèces dans le Tableau 4.1. La détermination des espèces se fait après lecture des diamètres, la couleur des mycéliums et des métabolites produits. Les Figures 4.19 et 4.18 montrent des photos des souches d'*Aspergillus* isolées.

Tableau 4.1 : les principaux critères morphologiques des *Aspergillus* sur les milieux standards utilisés pour l'identification des espèces.

Espèce	Milieu	T°	Lecture			
			Surface	Reverse	Diamètre	Exsudat
<i>Aspergillus clavatus</i>	CYA	37°C	Gris claire, bleu verdâtre	Pale	39 mm	Absence
	CYA	5°C	\	\	G-	\
	G25N	25°C	Gris	Pale	28 mm	Absence
	MEA	25°C	Gris clair	Pale	41 mm	Absence
<i>Aspergillus flavus</i>	CYA	37°C	Jaune, jaune verdâtre	Jaune clair	62 mm	Absence
	CYA	5°C	\	\	G-	\
	G25N	25°C	Jaune	Pale à orange	51 mm	Absence
	MEA	25°C	Vert	Pale	68 mm	Exsudat clair
	AFAP	25°C	Blanc	Orange	43 mm	Absence
<i>Aspergillus fumigatus</i>	CYA	37°C	Gris	Pale	65 mm	Absence
	CYA	5°C	\	\	G-	\
	G25N	25°C	Gris	Pale	23 mm	Absence
	MEA	25°C	Bleu verdâtre	Vert clair	70 mm	Absence
<i>Aspergillus niger</i>	CYA	37°C	Noir	Pale	61 mm	Absence
	CYA	5°C	\	\	G-	\
	G25N	25°C	Noir, jaune clair	Pale	46 mm	Absence
	MEA	25°C	Noir	Pale	64 mm	Absence
<i>Aspergillus ochraceus</i>	CYA	37°C	Jaune or	Jaune orange	31 mm	Absence
	CYA	5°C	\	\	G-	\
	G25N	25°C	Jaune clair	Jaune pale	43 mm	Absence
	MEA	25°C	Jaune crème	Pale	52 mm	Exsudat clair
<i>Aspergillus parasiticus</i>	CYA	37°C	Jaune verdâtre foncée	Pale	66 mm	Absence
	CYA	5°C	\	\	G-	\
	G25N	25°C	Jaune	Pale	56 mm	Absence
	MEA	25°C	Vert clair	Pale	76 mm	Exsudat marron
	AFAP	25°C	Blanc	Orange	46 mm	Absence
<i>Aspergillus terreus</i>	CYA	37°C	Jaune marron	Pale	63 mm	Absence
	CYA	5°C	\	\	G-	\
	G25N	25°C	Marron pale	Pale	22 mm	Absence
	MEA	25°C	marron	Marron clair	54 mm	Absence

*G⁺ : germination. * G⁻ : pas de germination.

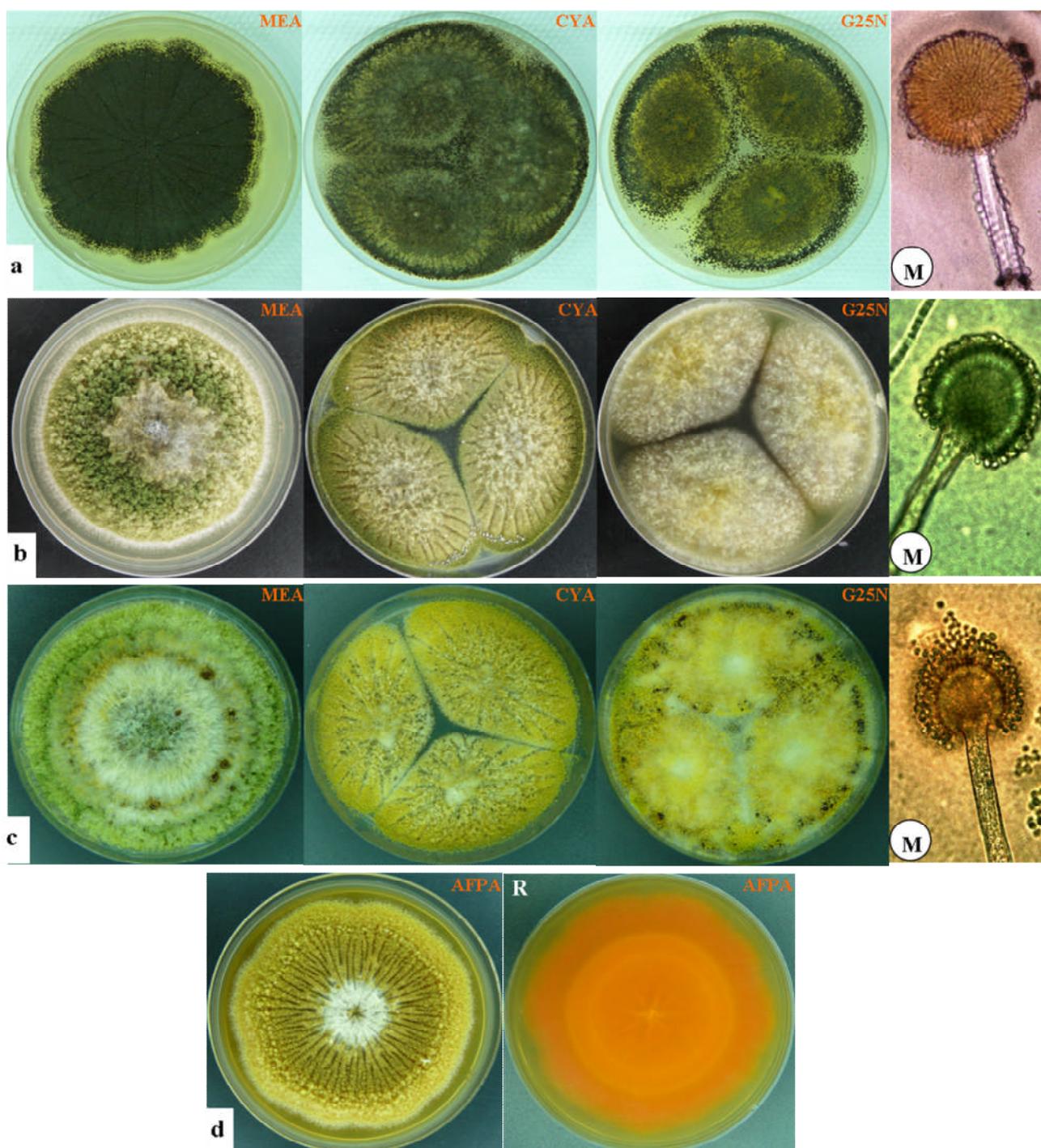


Figure 4.18: Espèces du genre *Aspergillus* sur les milieux standards d'identification (a,b,c au 7^{ème} jour, d au 14^{ème} jour); (a): *Aspergillus niger* ;(b,d): *Aspergillus flavus* ; (c): *Aspergillus parasiticus* ; (R): reverse de la boîte; (M) : aspect microscopique (Gr. x 40) ; AFPA: *Aspergillus flavus* and *parasiticus* agar, 25°C; CYA: Czapek yeast extract agar, 37°C; G25N: 25% Glycerol nitrate agar, 25°C; MEA: Malt extract agar, 25°C.

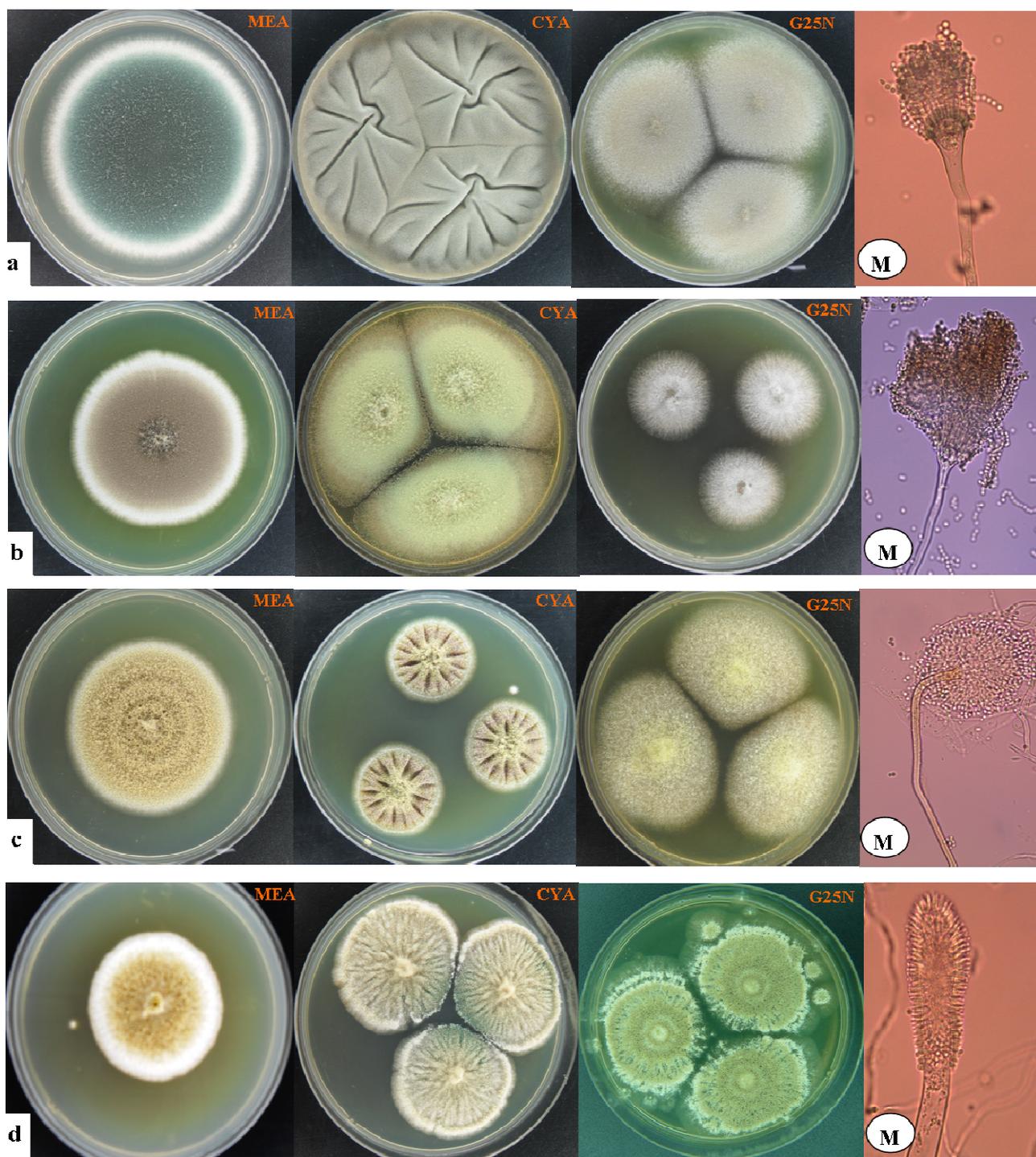


Figure 4.19 : Espèces du genre *Aspergillus* sur les milieux standards d'identification au 7^{ème} jours; (a): *Aspergillus fumigatus*; (b): *Aspergillus terreus*; (c): *Aspergillus ochraceus*; (d): *Aspergillus clavatus*; (M) : aspect microscopique (Gr. x 40) ; CYA: Czapek yeast extract agar, 37°C; G25N: 25% Glycerol nitrate agar, 25°C; MEA: Malt extract agar, 25°C.

4.2. Identification les espèces du genre *Penicillium*

A coté des *Aspergillus*, les *Penicilliums* jouent un rôle assez important dans l'altération des aliments mais les *Penicilliums* se développent dans des milieux où l'activité de l'eau est plus élevée que celle permettant la croissance des *Aspergillus*, et à des températures plus basses. Ce genre comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores (Pitt, 1988).

Suite à l'inoculation sur les milieux standards d'identification et en se référant aux clefs d'identification de Ramirez (1982) et les clefs d'identification de Pitt et Hocking (2009), on a pu identifier les espèces dans le Tableau 4.2.

Tableau 4.2 : les principaux critères morphologiques des *Penicillium* sur les milieux standards utilisés pour l'identification des espèces.

Espèce	Milieu	T°	Lecture			
			Surface	Reverse	Diamètre	Exsudat
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	CDA	25°C	Gris verdâtre	Jaune	46 mm	Absence
	CYA	37°C	Vert foncé	Jaune clair	58 mm	Absence
	G25N	25°C	Blanc	Jaune orange	22 mm	Absence
	MEA	25°C	Bleu verdâtre	Jaune	20 mm	Absence
<i>Penicillium chrysogenum</i>	CDA	25°C	Vert bleuâtre	Jaune claire	45 mm	Absence
	CYA	37°C	Vert foncé	pale	50 mm	Absence
	G25N	25°C	Jaune clair	Jaune orange	35 mm	Exsudat jaune
	MEA	25°C	Vert bleuâtre	jaune	49 mm	Absence
<i>Penicillium crustosum</i>	CDA	25°C	Vert	pale	23 mm	Absence
	CYA	37°C	Vert clair	Jaune	54 mm	Exsudat clair
	G25N	25°C	Jaune marron	Pale	20 mm	Absence
	MEA	25°C	Vert	Pale	35 mm	Absence
<i>Penicillium griseofulvum</i>	CDA	25°C	Vert clair	Rouge	29 mm	Absence
	CYA	37°C	Vert	marron	41 mm	Absence
	G25N	25°C	Blanc	Orange	22 mm	Exsudat marron
	MEA	25°C	Vert foncé	Rouge marron	38 mm	Absence
<i>Penicillium rugulosum</i>	CDA	25°C	Jaune verdâtre	Orange rouge	18 mm	Exsudat Jaunâtre
	CYA	37°C	Vert	Pale	08 mm	Absence
	G25N	25°C	Gris verdâtre	Marron foncé	09 mm	Absence
	MEA	25°C	Vert	Jaune crème	35 mm	Absence
<i>Penicillium verruculosum</i>	CDA	25°C	Jaune verdâtre	Marron claire	52 mm	Exsudat clair
	CYA	37°C	Blanc, vert violet	Jaune marron	61 mm	Absence
	G25N	25°C	Blanc	Pale	30 mm	Absence
	MEA	25°C	Vert foncé	Pale	56 mm	Absence

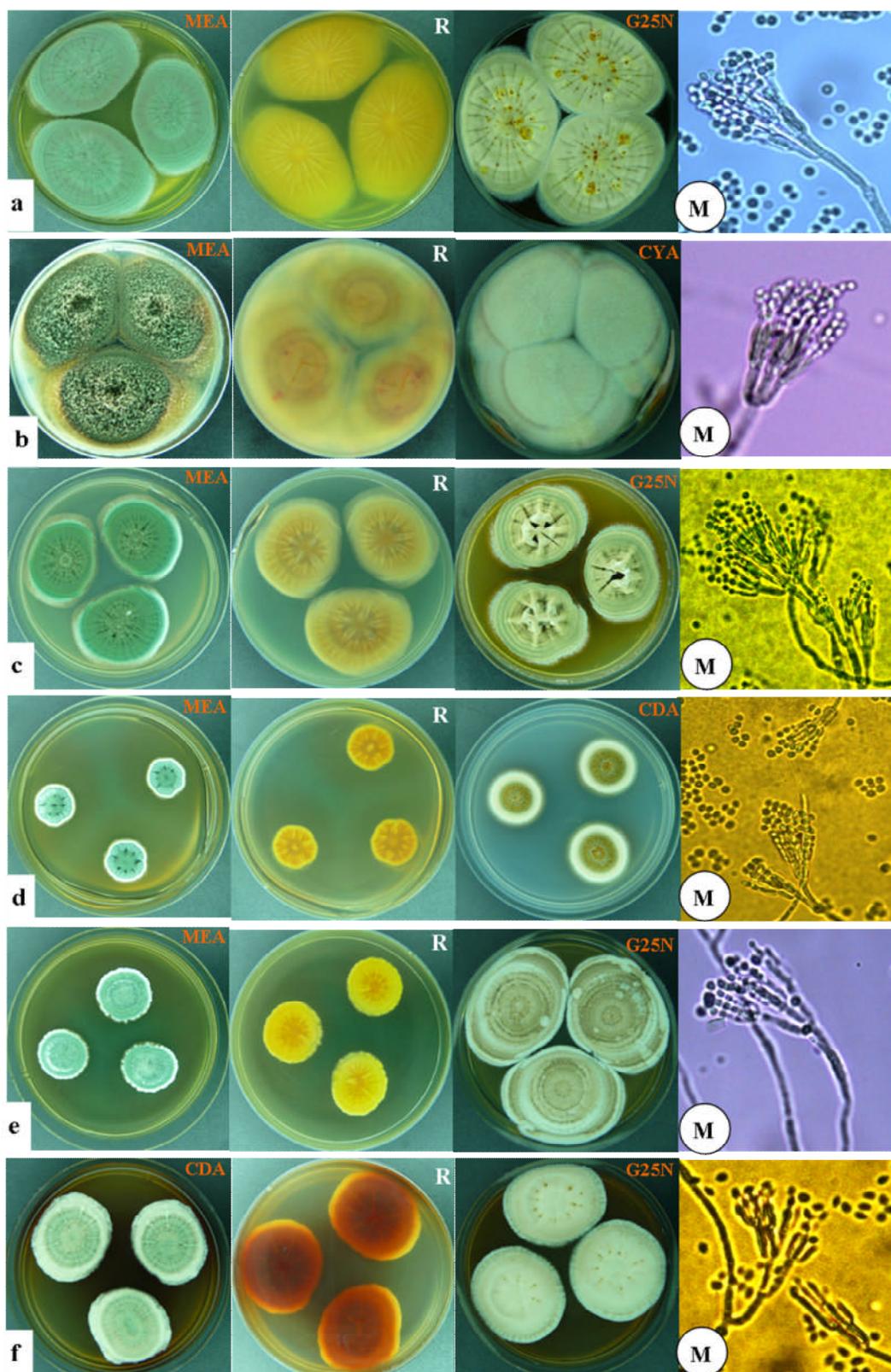


Figure 4.20 : Espèces du genre *penicillium* sur les milieux standards d'identification au 14^{ème} jour; (a): *P. chrysogenum*; (b): *P. verruculosum*; (c): *P. crustosum*; (d): *P. rugulosum*; (e): *P. aurantiigriseum*; (f): *P. griseofulvum*; (R): reverse de la boîte; (M) : aspect microscopique (Gr. x 40) ; CYA: Czapek yeast extract agar, 37°C; G25N: 25% Glycerol nitrate agar, 25°C; MEA: Malt extract agar, 25°C; CDA: Czapek-Dox agar, 25°C.

5. Analyses mycotoxiques

5.1. Les souches productrices d'aflatoxines

Le test de production d'aflatoxines faite pour douze souches d'*Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus* isolées de nos différents échantillons, à révélé que 83,33% des souches testées étaient productrice d'aflatoxines. Cinq souches (S₅,S₈,S₉,S₁₀,S₁₁, au figure) étaient productrices d'AFG₁, et quatre souches (S₁,S₂,S₆,S₇) étaient productrices d'AFB₁, avec une seule souche (S₁₂) productrice d'AFG₁ et d'AFB₁. On notant que deux souches (S₃, S₄) n'étaient pas productrice d'aflatoxines B₁ ou G₁.

Tableau 4.3 : les pourcentages des souches d'*Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus* productrices et non productrices d'aflatoxine B₁ et aflatoxine G₁.

Type de souches	Type d'aflatoxine	Nombre de souches	Pourcentage	
Les souches productrices	AFB ₁	04	33,33%	83,33%
	AFG ₁	05	41,66%	
	AFB ₁ et AFG ₁	01	08,33%	
Les souches non productrices	AFB ₁ ou AFG ₁	02	16,66%	

5.2. La détection des aflatoxines et de l'ochratoxine A au niveau des substrats

Le résultat de la présence de l'ochratoxine A était positif pour quatre échantillons de maïs, ce qui signifie que 50 % des échantillons étaient contaminés. La présence des aflatoxines au niveau des échantillons de maïs n'était pas bien clair, dont l'intensité des spots est faible, et malgré on notant la présence de l'aflatoxine B1 sur la totalité des échantillons. La recherche des aflatoxines et de l'ochratoxine A sur les autres substrats (les tourteaux de soja, le son, et l'alimentation finale), s'est révélée négative, à savoir que l'extraction était fait par le chloroforme qui est le meilleur solvant pour les mycotoxine et que l'opération passait par trois phase d'extraction, 100 ml, 50 ml, et 30 ml pour augmenter le rendement.

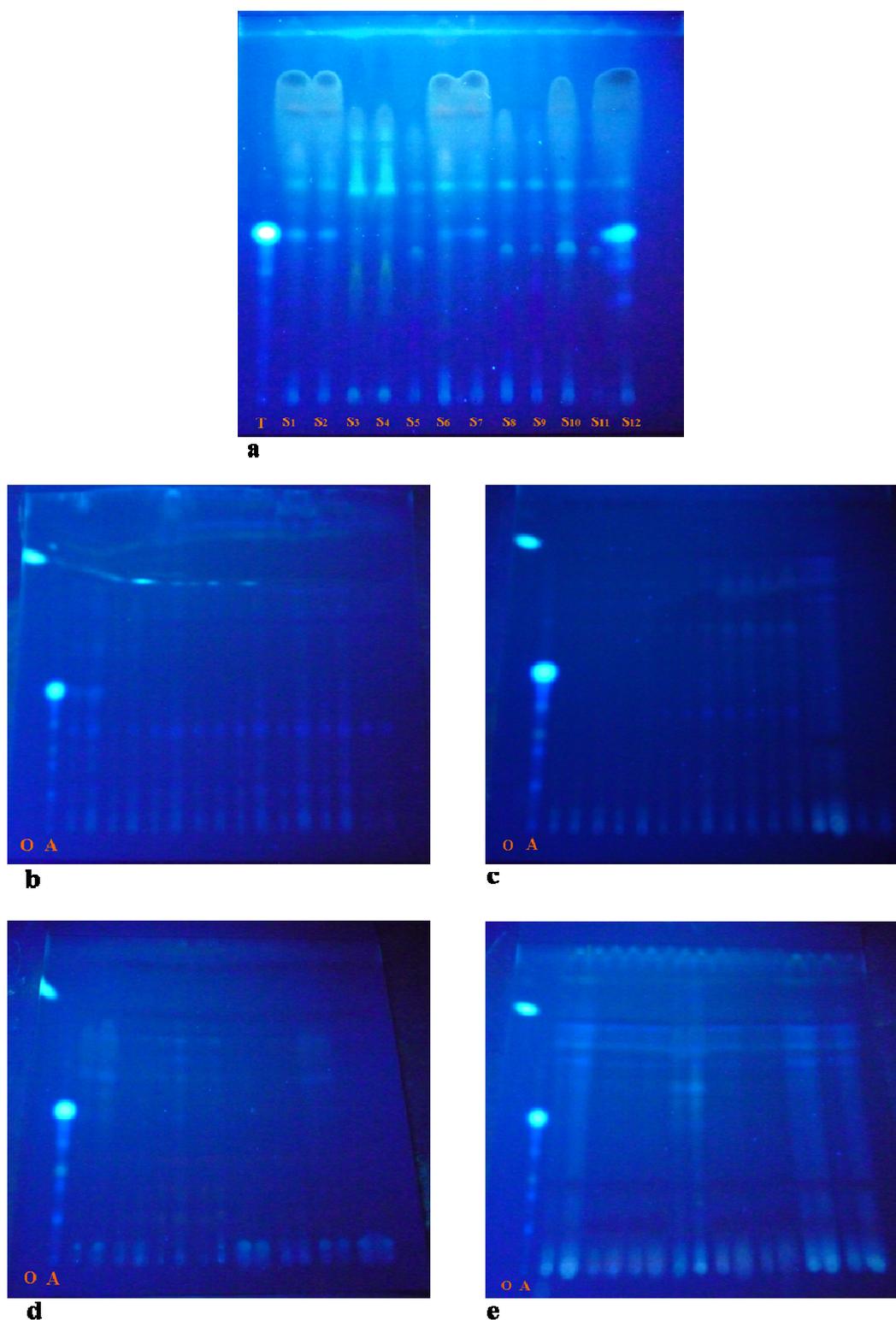


Figure 4.21: Les plaques de la chromatographie sur couche mince visualisées sous la lumière UV ; (a) : Séparation chromatographique via la recherche de la présence d'aflatoxine B₁ et aflatoxine G₁ produites par les souches d'*Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*; (T) : Témoin AFB₁ ; (b) : Séparation chromatographique via la recherche de la présence d'aflatoxines aflatoxine B₁ et l'ochratoxine A au niveau du Maïs; (c): au niveau des Tourteaux de soja; (d); au niveau du Son; (e): au niveau d'aliment composé; (O): témoin ochratoxine A; (A): témoin aflatoxine B₁.

Les moisissures sont des champignons filamenteux qui se développent sur une large gamme de produits entrant dans la ration alimentaire des ruminants (Ruppel *et al.*, 2004). Certaines souches de ces moisissures, sont capables d'excréter des mycotoxines (Yiannikouris et Jouany, 2002 ; Bennett et Klich, 2003). Les facteurs physiques essentiels qui influencent la croissance et la production de mycotoxine sont la température, l'activité d'eau et le pH (Mitchell *et al.*, 2004).

La disponibilité en eau a une influence déterminante sur le développement du champignon ainsi que sur sa production de mycotoxines, notamment dans les denrées peu hydratées comme les céréales (Cahagnier *et al.*, 1998). Les différences de comportement des espèces fongiques selon la disponibilité en eau ont conduit à distinguer des espèces hygrophiles, mésophiles et xérophiles (Folcher, 2008). Nos résultats montrent que tous les échantillons (Maïs, Tourteaux de soja, son et Aliment composé) sont peu hydratés, les valeurs moyennes de l'humidité relative étaient généralement entre 07,25 % et 13,02 %. Mais les taux de l'humidité dans les fractions de l'alimentation ne sont pas homogènes, dont il y a des zones qui sont avec des taux de l'humidité bien élevés par rapport d'autres, et le mélange des sous échantillons qui fait homogénéiser les rapports, ainsi que les moisissures appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont généralement capables de se développer dans les aliments pauvres en eau comme les céréales au cours de stockage (Castegnaro et Pfohl, 2002). Selon Alborch et ses collaborateurs (2011), les souches d'*Aspergillus Niger* et *Aspergillus carbonarius* ont pu produire de l'OTA sur les grains de maïs à partir de la cinquième journée d'incubation sur une large plage de températures et disponibilités en eau. Certaines moisissures xérophiles (*A. flavus* ou *P. restrictis*) peuvent se développer dans les denrées dont l'*Aw* est faible. Généralement, les espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium* sont des contaminants typiques des céréales au stockage tandis que les espèces de *Fusarium* préfèrent le milieu dont l'*Aw* est plus élevée (Pardo *et al.*, 2004). Néanmoins, les champignons de champs exigent typiquement d'une haute teneur en humidité dans le substrat (22-25 %) par rapport aux champignons de stockage (13-18 %) (Samson *et al.*, 2005).

Le pH peut avoir un effet critique pour la croissance fongique et la production de mycotoxine (Reboux, 2006). Le pH de nos échantillons était légèrement acide avec des valeurs comprises dans l'intervalle (5,94 et 6,91). Selon Balzer (2003) la majorité des moisissures se développent dans un pH compris entre 4 et 8, avec une croissance optimale entre 5 et 6, certaines tolèrent cependant des pH beaucoup plus acides ou très alcalin. En raison de leur acidité de nombreux aliments sont beaucoup plus exposés à une altération fongique que bactérienne (Tabuc, 2007). Ainsi que l'OTA se forme préférentiellement sur les aliments acides (Cuero et Smith, 1987). L'alimentation de bonne qualité est nécessaire pour le maintien des fonctions physiologiques et le système de défense des animaux contre les maladies et les parasites. Traditionnellement, la qualité d'un aliment a été évaluée sur la base de la valeur nutritionnelle de chaque composante

alimentation (Khosravi *et al*, 2008). Dans le présent travail, le total de 32 échantillons est prélevé et analysé pour déterminer les différentes populations fongiques. L'expression d'environ sept différentes genres de champignons, qui représentent à la fois la flore du champ et de stockage avec l'apparition d'un pourcentage particulièrement important pour des espèces appartiennent aux genres *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium*. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par d'autres chercheurs (Bragulat *et al.*, 1995; Accensi *et al*, 2004 ; Khosravi *et al*, 2008). Selon Cahagnier *et al.*, (1998), les espèces de moisissures les plus fréquentes retrouvées dans les aliments appartiennent aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*.

La dominance du genre *Aspergillus* était bien claire dans la plupart des échantillons de l'aliment composé et ses ingrédients (tourteaux de soja, maïs et sons). Ainsi, les *Aspergillus* sont souvent retrouvés dans les céréales issus des régions chaudes, parfois à des fréquences très élevées : 82.3% des échantillons d'orge en Espagne (Medina *et al.*, 2006). 76,4%, 78% et 82,3% des échantillons de maïs produits au Ghana (Kpodo *et al.*, 2000), en Argentine (Etcheverry *et al.*, 1999) et au Venezuela (Medina et Martinez, 2000) ont été trouvés contaminés par des *Aspergillus*. Bien qu'un début de contamination soit possible au champ, la contamination par *Aspergillus flavus* aura principalement lieu au cours du stockage, si les conditions sont chaudes et humides (Miller, 1995). D'après notre étude, le taux de germination des grains de maïs était de 54,52 %, mais selon un travail faite par Moussaoui, (1994) au niveau de l'unité de transformation de Meghnia, le taux de germination ne dépassait pas le 30,6%, à savoir que si le pourcentage ne dépasse pas 80%, le produit est dévié vers l'alimentation animale. La désinfection superficielle par l'hypochlorite de sodium (la technique du buvard modifiée augmente le taux de germination, et permet l'apparition de la flore interne (Hassani *et al.*, 2008 ; Djerroudi *et al.*, 2010) ce qui traduit par l'élévation de pourcentage du genre *fusarium*. Les espèces de *Fusarium* se développent, de préférence, sous des climats moins chauds et plus humides et situent dans des Aw extrêmes par rapport aux autres genres. Par ailleurs, les moisissures ne sont pas exclusivement toxigènes (Folcher, 2008). En 1998, au Brésil, des espèces de *Fusarium* ont été retrouvées dans 98,7 à 100% des échantillons de maïs analysés (Ono *et al.*, 1999). Par la méthode de dilution, le genre *fusarium*, révélé au niveau du maïs et l'aliment composé qui déjà contient les grains de maïs broyées. Le genre *Fusarium spp* est un contaminant du maïs, mais aussi d'autres cultures dont le blé, le mil et le sorgho ainsi que les fruits secs (Folcher, 2008). Le genre *Fusarium* comprend des espèces capables de produire de nombreuses mycotoxines : les trichothécènes, la zéaralénone et les fumonisines (Pitt, 2000). Le maïs était plus contaminé que le son ou les tourteaux de soja, selon Tabuc, (2007), les céréales sont sans doute les denrées alimentaires les plus fréquemment contaminées par les moisissures. La flore fongique du son s'est révélée plus élevée et plus diversifiée que celle de tourteaux de soja, duquel

les spores des moisissures sont concentrées sur la partie externe (l'enveloppe) du grain où elles y sont étroitement liées et par conséquent, l'élimination des enveloppes des grains de blé par broissage abrasif réduit le taux de contamination d'environ 87% (Laca *et al.*, 2006). Deux genres majoritaires, *Aspergillus* et *Penicillium* sont révélés dans les tourteaux de soja avec une absence totale du genre *Fusarium*. Cependant la contamination des oléagineux, graines ou tourteaux, couramment utilisés en alimentation animale, est principalement due aux trois genres de moisissures *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* (Yiannikouris et Jouany, 2002). Généralement les conditions de stockage des ingrédients premières sont mauvaises, et souvent les grains de maïs sont déposés directement sur la terre sans protection contre les agents de détérioration et d'infection, selon Castegnaro et Pfohl, (2002) les insectes représentent les principaux vecteurs de spores de moisissures au champ et dans les lieux de stockage. Les insectes, en dégradant la paroi des grains, favorisent la contamination par les moisissures et la production des mycotoxines. Les acariens sont des vecteurs important de spores, ils vivent sur les grains moisissés, récupèrent et transportent ensuite les spores sur la surface de leur corps et dans leur tube digestif. D'après nos résultats, le genre *Penicillium* vient en seconde place après le genre *Aspergillus* de point de vue fréquence d'apparition. Cependant les espèces du genre *Penicillium* prolifèrent en présence d'une activité hydrique relativement faible et à basse température. Ces espèces sont fréquemment isolées des céréales produites dans les pays tempérés, 57% des échantillons d'orge en Espagne contenaient des *Penicillium* (Medina *et al.*, 2006), 67%, 50 à 83%, 93 à 100% des échantillons de maïs d'Argentine, d'Inde et de Brésil (Etcheverry *et al.*, 1999 ; Janardhana *et al.*, 1999 ; Ono *et al.*, 1999). *Penicillium crustosum* est un champignon de détérioration. Il a été isolé de la majorité des céréales et des échantillons d'aliments pour animaux examinés (Pitt et Hocking, 2009), ainsi *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium chrysogenum* et *Penicillium griseofulvum* sont très fréquemment rapportés à partir des céréales: le riz, blé, orge, maïs, farine (Pitt et Hocking, 1997). Les aliments composés pour les bétails peuvent être contaminés par les spores qui étaient initialement présentes dans les céréales ou dans les autres ingrédients (oléagineux) qui entrent dans leur composition (Tabuc, 2007). Ils peuvent aussi être contaminés au cours du processus de fabrication ou pendant le stockage. Les espèces de moisissures les plus fréquemment retrouvées dans les aliments composés appartiennent aux mêmes genres que ceux contaminant les céréales : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* (Tabuc, 2007). Une enquête menée en Slovaquie a montré que 89% des échantillons contenaient des *Penicillium*, 69% des *Aspergillus* et 42% des *Fusarium* (Labuda et Tancinova, 2006). Ces fréquences de contaminations sont comparables avec celles obtenues dans des enquêtes réalisées en Argentine (Tabuc, 2007). Le changement de la disparition ou bien l'apparition de certaines espèces fongiques en passant des ingrédients premières vers l'aliment composée peut s'expliquer par l'effet des processus de fabrication et les phénomènes de compétition. La

compétition pour les nutriments et l'espace est un phénomène rencontré fréquemment dans le monde vivant. La présence simultanée de plusieurs espèces de microorganismes dans le même milieu détermine des interactions entre les différentes espèces. Les conditions environnementales peuvent favoriser certaines espèces et défavoriser les autres (Castegnaro et Pfohl, 2002). Les champignons producteurs de toxines appartiennent essentiellement aux genres *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.* et *Alternaria spp.* (Boiron, 2008). La plus parts des espèces identifiées à partir nos échantillons sont toxino-gènes, sept espèces du genre *Aspergillus* (*A.flavus*, *A.clavatus*, *A.niger*, *A. parasiticus*, *A.terreus*, *A.ochraceus*, *A.fumigatus*), alors que le genre *Penicillium* était représenté par six espèces. La majorité d'espèces du genre *Penicillium* sont capables de produire des mycotoxines : l'acide cyclopiazonique (*Penicillium chrysogenum*), l'acide pénicillique (*Penicillium cyclopium*) ; la patuline ou la clavacine (*Penicillium expansum*, *Penicillium griseofulvum*) (Frisvad et Samson, 2004), la citrinine (*Penicillium expansum*), l'ochratoxine A (*Penicillium verrucosum*) (Pitt, 2000). pénitrem A, roquefortine C (*Penicillium crustosum*) la Toxicité des penitrem vis-à-vis les animaux est bien confirmé (Pitt et Hocking, 1997) ; rugulosine, skirine (*Penicillium rugulosum*) (Tabuc, 2007). Et malgré que les *Penicillium* sont très rarement incriminés en pathologie animale et humaine, parce que la température de croissance de la plupart des espèces est inférieure à 30°C (Hennequin et Lavarde, 1998). *Aspergillus flavus* et *A. parasiticus* sont les principaux producteurs d'aflatoxines. L'aflatoxine B1 est classée comme cancérigène chez l'homme et l'animal (Tabuc, 2007). *Aspergillus fumigatus* synthétise plusieurs métabolites très toxiques comme la fumagiline, l'acide helvolique, la gliotoxine, les dérivés quinoniques, des alcaloïdes voisins de ceux de l'ergot de seigle. *Aspergillus niger* peut produire de l'acide oxalique, des malformines et, certaines souches, des aflatoxines. *Aspergillus ochraceus* est le principal producteur d'ochratoxine A. Il colonise lui aussi de très nombreux substrats. *Aspergillus terreus* élabore des substances antibactériennes, de toxicité variable (flavipine, terréine, citrinine, erdine et molécules voisines, clavacine) (Botton *et al.*, 1990). Cependant selon Folcher, (2008), on entend par « espèce fongique toxino-gène », une espèce pour laquelle certaines souches sont susceptibles d'élaborer ou de provoquer l'apparition d'un ou plusieurs métabolites toxiques dans certaines conditions. La dynamique épidémique de chaque groupe mycologique est étroitement dépendante des conditions de l'environnement. Le nombre des facteurs impliqués tout comme les interactions probables qu'il peut exister entre eux est considérable. Par ailleurs, du point de vu mycotoxicologique, dix des douze souches d'*Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus* (83,33%) isolés et identifiés sont potentiellement mycotoxino-gènes. Le dosage qualitatif par CCM des aflatoxines B1 et G1 sur les échantillons de maïs s'est révélé positif. Cela peut être expliqué par la possibilité que les souches d'*Aspergillus* isolées de ces échantillons soient toxino-gènes, en plus,

la température optimale de toxinogénèse est voisine de la température optimale de croissance (Bourgeois *et al.*, 1996).

Cependant, et selon plusieurs travaux, des différents niveaux de contamination par les aflatoxines sont détectés au niveau du maïs : en Argentine par AFB1 (50 µg/kg) AFB2 (30 µg/kg) (Nepote, 1997), en Brésil par AFB1 (0,2-129 µg/kg) (Vargas, 2001), en Etats Unis, aflatoxines totales (0-35 µg/kg) (Abbas, 2002), en France par AFB (14-34 µg/kg) (Garon, 2006), en Kenya par AFB1 (52.91 µg/kg) (Lewis, 2005). Malgré l'absence d'*Aspergillus ochraceus* dans les échantillons de maïs, la présence de l'ochratoxine A peut s'expliquer par que la toxine est préformée dans le substrat et l'absence de champignon ne signifie obligatoirement l'absence de la toxine ainsi les moisissures peuvent proliférer et produire des mycotoxines avant ou après la récolte, pendant le stockage, le transport, ou la transformation des matières premières et des aliments (Cahagnier *et al.*, 1998). Néanmoins, L'ochratoxine A (OTA) peut être produite par le genre *Aspergillus* et le genre *Penicillium*. La production est liée aux conditions de température et d'humidité (Pitt, 1987). Les céréales s'avèrent la matière alimentaire la plus contaminée par l'OTA (El Khoury, 2007). Ainsi que selon plusieurs travaux, des différents niveaux de contamination par l'ochratoxine sont détectés au niveau du maïs : en Croatie (1,47 µg/kg) (Domijan, 2005), en Grand Bretagne (1,5 µg/kg) (Scudamore, 2000), en Turquie (0,47 µg/kg) (Baydar, 2005).

L'absence d'aflatoxines et d'ochratoxine A dans nos échantillons du son, tourteaux de soja et aliment composé peut être expliquées par les taux des mycotoxines inférieurs au seuil de détection de la méthode CCM (0.5 ppb) (Zakaria et Majerus, 1992). Par ailleurs, les mycotoxines dans les oléagineux, graines ou tourteaux, sont largement détruites lors de l'extraction des huiles et des traitements industriels (Yiannikouris et Jouany, 2002). Cependant, selon Tabuc, (2007), l'ochratoxine A, se retrouve dans les aliments composés pour les animaux, conséquence d'utilisation de matières premières contaminés ou de mauvaises conditions de stockage. Cette mycotoxine a été retrouvée à des niveaux pouvant atteindre 30 µg/kg dans les aliments composés.

Malgré le risque de la présence des mycotoxines, les ruminants sont plus résistants que les animaux monogastriques à la plupart des mycotoxines, la population microbienne du rumen constituant un filtre efficace permettant une bonne élimination des toxines (Yiannikouris et Jouany, 2002). Les mycotoxicoses chroniques ou ponctuelles sont rarement détectées chez les ruminants par les éleveurs ou par les vétérinaires. Elles surviennent le plus souvent chez les animaux à production élevée et sont alors confondues avec des pathologies classiques chez ce type d'animaux

Ce modeste travail a permis, après quelques mois d'étude au niveau des unités de fabrication d'alimentation animale de Wilaya de Relizane et du Laboratoire de valorisation des ressources végétales et sécurité alimentaire des zones semi aride sud ouest algérien-Bechar, d'isoler et identifier des moisissures toxino-gènes au niveau de l'alimentation du bétail et la détection des aflatoxines et de l'ochratoxine A.

A la lumière de ce travail, nous constatons que l'alimentation du bétail présente un taux de contamination considérable ($56,39 \times 10^2$ UFC/g). La dominance du genre *Aspergillus* s'était nettement claire (53,23%). Ainsi, l'analyse mycologique montre la présence des espèces moisissures hautement mycotoxino-gène, dont la fréquence d'*Aspergillus flavus* était de 57,69 %. L'élévation du pourcentage des souches productrices des aflatoxines (83,33) et la contamination du maïs par deux types de mycotoxines reflètent l'importance de ces toxines dans la région étudiée en plaçant l'homme et l'animale en risque d'atteinte. Cependant, l'évolution chronique et discrète de l'intoxication et le confondu avec d'autres pathologies, révèle la grande difficulté de diagnostiquer ces cas.

En Algérie, beaucoup d'éléments restent à découvrir dans ce l'axe. La présence des mycotoxines dans l'alimentation animale mérite la réalisation de sérieuses études. Ceci est d'autant plus important que les mycotoxines présentant une grande importance sanitaire et économique chez les ruminants et le risque de passer à l'homme.

Il est possible de réduire le niveau de contamination des aliments par les mycotoxines en appliquant des règles de bonnes pratiques de culture et en respectant des règles sanitaires simples au moment de la récolte, du stockage et de la transformation des aliments. Puisque peu de traitements permettent de décontaminer les aliments, il est fortement recommandé d'utiliser des adsorbants pour limiter les effets délétères des mycotoxines sur les animaux et leur transfert dans les produits animaux destinés à la consommation de l'homme.

- **Abbas H.K., Williams W.P., Windham G.L., Pringle H.C., Xie W., Shier W.T.** 2002. Aflatoxin and fumonisin contamination of commercial corn (*Zea mays*) hybrids in Mississippi, *J. Agric. Food Chem.*, 50 (18), 5246-5254.
- **Accensi, F., M.L. Abarca., F.J. Cabanes** .2004. Occurrence of *Aspergillus* species in mixed feeds and component raw materials and their ability to produce ochratoxin A, *Food Microbiol.*, 21: 623-627.
- **Adem. R., Ferrah A.** 2002. Les ressources fourragères en Algérie, *Dv* 151 (2), 165-172.
- **AFSSA : Agence française de sécurité sanitaire des aliments.**2009. Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Rapport synthétique.
- **Albert E. Pohland., Mary W. Trucksess.** 2004. Mycotoxin Method Evaluation, Methods in Molecular Biology, vol. 157: Mycotoxin Protocols Edited by: M. W. Trucksess and A. E. Pohland Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- **Alborch. L., M.R. Bragulat., M.L. Abarca., F.J. Cabañes.**2011. Effect of water activity, temperature and incubation time on growth and ochratoxin A production by *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* on maize kernels, *International Journal of Food Microbiology.*, FOOD-05491; No of Pages 5.
- **Andre El Houry.** 2007. Champignons Mycotoxinogènes et Ochratoxine A (OTA) et Aflatoxine B1 (AFB1) dans les vignobles libanais : Occurrence et Origine. Thèse de docteur de *l'institut national polytechnique de Toulouse*.
- **Auerbach, H., R.F.M. Maas., H.J.M. Pop Den Camp., A. Pol., J. Finkgremmels.**1998. Biodegradation of aflatoxin B1 by bovine rumen microorganisms in vitro and its effects on rumen fermentation, *Revue de Médecine Vétérinaire.*, 149: p. 573.
- **Aziz, N.H., Mattar, Z.A., Mahrous, S.R.**2006. Contamination of grains by mycotoxin-producing molds and mycotoxins and control by gamma irradiation, *J. Food Saf.*, 26: 184–201.
- **Balzer Alexander.** 2003. Les trichotecenes : nature et origine. Thèse docteur vétérinaire, université Toulouse.
- **Barnett, H.L.** 1998. Illustred general of imperfection fungi, *Burgess publishing company. Minnesota (USA):* 4eme edition.
- **Baydar T., Engin A.B., Girgin G., Aydin S., sahim G.**2005. Aflatoxin and ochratoxin in various types of commonly consumed retail ground samples in Ankara, Turkey, *Ann. Agric. Environ. Med.*, 12, 193–197.

- **Belhadia M., Saadoud M., Yakhlef H., Bourbouze A.**2009. La production laitière bovine en Algérie : Capacité de production et typologie des exploitations des plaines du Moyen Cheliff, *Revue Nature et Technologie.*, n° 01/ Pages 54 à 62.
- **Bencherchali M., Houmani M.** 2010. Intérêt Fourrager Pour les Ruminants de Deux Espèces Fourragères Spontanées Bromus Madretensis L. et Bromus Maximus Desf. ISSN 1450-216X Vol.43 No.3 (2010), pp.307-315.
- **Benkirane R.** 1995. Contribution à l'étude des maladies du riz au Maroc. Cas de la pyriculariose due à *Pyricularia oryzae*. Thèse de 3ème cycle, Univ. Ibn Tofaïl, Fac . Sci. Kénitra, Maroc, 189 p.
- **Berthier, J., G. Valla.** 2008. Moisissures-Mycotoxines et aliments : du risque a la prévention., 23-34-5587.
- **Betina Vladimir.**1993. Chromatography of mycotoxins techniques and applications,*Journal of chromatography library*, Elsevier science edition. -0-444-81521-X.
- **Boiron, P.** 2008. Faculté de pharmacie de Lyon I - Institut des sciences pharmaceutiques et biologiques.URL:http://ispb.univlyon1.fr/mycologie/Site_lab0_myc0/Enseignement/3/Mycot oxines02.htm#Aspects%20ecologiques, consulté le 17/09/2011.
- **Boudra, H., J. Barnouin, S. Dragacci., D.P. Morgavi.**2007.Aflatoxin M1 and ochratoxin A in raw bulk milk from french dairy herds, *Journal of Dairy Science.*, 90: p. 3197-3201.
- **Boudra ,H.**2011. Efficacité de détoxification de l'aflatoxine B1 et de l'ochratoxine A par un adsorbant organique : Evaluation par la balance d'excrétion et les paramètres toxicocinétiques chez le rat et la brebis laitière. These docteur d'universite, *Université Blaise Pascal*, N°D. U. : 2141.
- **Bourais Ilhame, Amine Aziz.**2006.Aflatoxines toxiques redoutables dans nos aliments. Laboratoire des analyses Chimiques et Biocapteurs, Faculté des Sciences et Techniques de Mohammedia.
- **Bourgeois, C. M., J. F. Mesle., J. Jucca.**1996. Microbiologie alimentaire. Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier TEC&DOC. France.
- **Bouzebda-Afri Farida.** 2007. Performances zootechniques et structure d'élevage dans la population bovine de type local (Est algérien).Thèse de doctorat d'état en sciences vétérinaires.
- **Bragulat, M.R., M.L. Abarca., O. Castella., J. Cabanes.** 1995. Mycological survey on mixed poultry feeds and mixed rabbit feeds, *J. Sci. Food Agri.*, 67: 215-220.

- **Cahagnier, B., S. Dragacc., C. Frayssinet., J. M. Frémy., G. L. Hennebert., L. Lesage-meessen., J. L. Multon., D. Richard-Molard., and M. F. Roquebert.**1998. Moisissures des aliments peu hydrates. Lavoisier Tec&Doc. France.
- **Castegnaro M., Pfohl-Leszkowicz A .**2002.Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans *La sécurité alimentaire du consommateur*, Lavoisier, Tec&Doc.
- **Cerf .O .,Donnat. E.**2011. Application of hazard analysis Critical control point (HACCP) principles to primary production: What is feasible and desirable?, *Food Control.*, 22 (2011) 1839e1843.
- **Chehma. A., Longo.H.F.**2001.Valorisation des Sous-produits du Palmier Dattier en Vue de leur Utilisation en Alimentation du Bétail, *Rev. Energ. Ren.*, 02 : 59-64.
- **Christensen, C. M., Nelson, G. H., Speers G. M., Mirocha, C. J.** 1973. Results of feeding tests with rations containing grain invaded by a mixture of naturally present fungus plus *Aspergillus flavus* NRRL2999, *Feedstuffs.*, April 2, pp 20-41.
- **CNA.**2008. Synthèse conclusive et recommandations des travaux. Quatrièmes journées d'études Parlementaires Sur La défense nationale « La défense économique », Alger : 07-08 juin 2008. 09p.
- **Cotty P.J., Bhatnagar D.**1994. Variability among atoxigenic *Aspergillus flavus* strains to prevent aflatoxin contamination and production of aflatoxin biosynthetic pathway enzymes, *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 2248-2251. In Yiannikouris .A., J-P. Jouany.2002. Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal, *INRA Prod. Anim.*, 15 (1), 3-16.
- **Cuero, R. G., et Smith, J. E.** 1987. Interaction of water activity, temperature and substrate on mycotoxin production by *Aspergillus flavus*, *Penicillium viridicatum* and *Fusarium graminearum* in irradiated grains, *Transactions of the British Mycological Society.*, 2, 221-226.
- **Dante Javier Bueno., Julio Oscar Silva., and Guillermo Oliver.**2004. Fungal Isolation and Enumeration in Foods, *Methods in Molecular Biology*, vol. 268: Public Health Microbiology: Methods and Protocols Edited by: J. F. T. Spencer and A. L. Ragout de Spencer Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- **Dao Huy Phong.** 2005. caractérisation de certains genes polycetones synthase chez *aspergillus ochraceus* nrml 3174 producteur d'ochratoxine a et d'acide penicillique. these docteur de l'institut national polytechnique de toulouse.

- **Davis n. D., u. L. Diener.,d. W. Eldridge.**1966. Production of Aflatoxins B1 and G1 by *Aspergillus flavus* in a Semisynthetic Medium, *Applied Microbiology, American Society for Microbiology*, Vol. 14, No. 3.
- **Djermoun Abdelkader., Chehat Foued.** 2012. Le développement de la filière lait en Algérie: de l'autosuffisance à la dépendance, *Livestock Research for Rural Development 24 (1) 2012*.
- **Djerroudi –Zidane Ouiza., Moulay Belkhodja., Samia Bissati., Soumia Hadjadj.**2010. Effect of Salt Stress on the Proline Accumulation in Young Plants of *Atriplex Halimus* L. and *Atriplex Canescens* (Pursh) Nutt., ISSN 1450-216X Vol.41 No.2 ,pp.249-260.
- **Diaz D.E., Hagler W.M., Hopkins B.A., Eve J.A., Whitlow L.W.**1999. The potential for dietary sequestering agents to reduce the transmission of dietary aflatoxin to milk of dairy cows and to bind aflatoxin in vitro, *J. Dairy Sci.*, 82 (suppl. 1), 838. In Yiannikouris .A., J-P. Jouany.2002. Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal, *INRA Prod. Anim.*, 15 (1), 3-16.
- **Dodge Yadolah.** 2007. Statistique Dictionnaire encyclopédique, ISBN : 978-2-287-72093-2 Springer Paris Berlin Heidelberg New York.
- **Domijan A.M., Peraica M., Cvjetkovic B., Turcin S., Jurjevic Z., Ivic D.**2005.Mould contamination and co-occurrence of mycotoxins in maize grain in Croatia, *Acta Pharm.*, 55, 349-356.
- **Dorner, J. W., Cole, R. J., Diener, U. L.** 1984. The relationship of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* with reference to production of aflatoxins and cyclopiazonic acid, *Mycopathologia.*, 87, 13-15.
- **Etcheverry M., Nesci A., Barros G., Torres A., Chulze S .**1999.Occurrence of *Aspergillus* section flavi and aflatoxin B1 in corn genotypes and corn meal in Argentina, *Mycopathologia.*, 147 (1), 37-44. In Tabuc Cristina. 2007. flore fongique de differents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse et de l'universite de Bucarest.
- **EU.**2004. Regulation (EC) No 852/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on the hygiene of foodstuffs, *Official Journal of the European Communities*, L226, 3e21.
- **FAO.**1992. manuels sur le contrôle de la qualité des produits alimentaires ; cours de formation sur les mycotoxines.issn :1014-2906.

- **FAO.**2003.reglementations relatives aux mycotoxines dans les produits d'alimentation humain et animale, à l'échelle mondiale en 2003.*étude FAO alimentation et nutrition.*1014-2008.
- **Fiore Del A. a., M. Reverberi b., A. Ricelli c., F. Pinzari d., S. Serranti e., A.A. Fabbri b., G. Bonifazi e., C. Fanelli.**2010. Early detection of toxigenic fungi on maize by hyperspectral imaging analysis, *International Journal of Food Microbiology.*, 144 (2010) 64–71.
- **Frisvad, J.C. et Samson R.A.** 2004. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins, *Studies in Mycology* 49: 1–173. In Pitt John I. et Hocking Ailsa D. 2009. *Fungi and Food Spoilage*. Third edition, Springer Dordrecht Heidelberg London New York.
- **Frisvad, J.C. Thrane, U., Samson, R.A. and Pitt, J.I.** 2006. Important mycotoxins and the fungi which produce them. In *Advances in Food Mycology – Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol. 571, eds A.D. Hocking, J.I. Pitt, R.A. Samson and U. Thrane. Berlin: Springer-Verlag pp. 3–31.
- **Galtier P.**1999. Biotransformation and fate of mycotoxins, *J. Toxicol.-Toxin Reviews.*, 18, 295-312.
- **Garcia Daiana., Esther Garcia-Cela., Antonio J. Ramos., Vicente Sanchis., Sonia Marín.**2011. Mould growth and mycotoxin production as affected by *Equisetum arvense* and *Stevia rebaudiana* extracts., 2011.02.016.
- **Garon D., Richard E., Sage L., Bouchart V., Pottier D., Lebailly P.**2006.Mycoflora and multimycotoxin detection in corn silage: experimental study, *J. Agric. Food Chem.*, 54 (9), 3479-3484.
- **Gonzalez, H.H.L., Resnik, S.L., Boca, R.T., Marasas, W.F.O.** 1995. Mycoflora of Argentinean corn harvested in main production area in 1990, *Mycopathologia.*, 130, 29–36.
- **Gremmels J. Fink.**2008. The role of mycotoxins in the health and performance of dairy cows., doi:10.1016/j.tvjl.12.034.
- **Guerre. P., J.-D. Bailly., G. Benard., V. Burgat.** 2000. Excrétion lactée des mycotoxines : quels risques pour le consommateur ?, *Revue Méd., Vét.*,151, 1, 7-22.
- **HAGLER, W.A.** 2005. Mycotoxins : A review of dairy concerns. in Mid-south Ruminant Nutrition Conference.
- **Hannin Soumya., Khadija Hassikou ., Rachid Benkirane ., Amina Ouazzani Touhami ., Allal Douira.** 2002. Étude de l'état sanitaire des semences du riz, *Actes Inst.Agron. vet. Maroc.*, Vol. 23(2-3) :127-134.

- **Harkat S., Lafri M.**2007.Effet des traitements hormonaux sur les paramètres de reproduction chez des brebis «ouled-djellal», *Courrier du Savoir* – N°08., Juin , pp.125-132.
- **Harris James L.**1986. Modified Method for Fungal Slide Culture, *Journal Of Clinical Microbiology.*, Sep, p. 460-461 Vol. 24, No. 3 0095-1137/86/090460-02\$02.00/0.
- **Hartog Johan den.**2003. Feed for Food: HACCP in the animal feed industry, *Food Control.*, 14 (2003) 95–99.
- **Hassani A., Dellal A., Belkhodja M., Kaid- Harche M.**2008. Effet de la Salinite Sur L'eau et Certains Osmolytes Chez L'orge (Hordeum Vulgare)., 1450-216X Vol.23 No.1, pp.61-69.
- **Hohler, D., K. H. Sudekum., S. Wolfram., A. A. Frohlich., R. R. Marquardt.** 1999. Metabolism and excretion of ochratoxin A fed to sheep, *J. Anim. Sci.*,77(5):1217-1223.
- **Houmani, M., Houmani Z., Skoula M.**2004.Intérêt de Artemisia herba alba Asso. dans l'alimentation du bétail des steppes algériennes *Acta Botanica Gallica.*, 151 (2), 165-172.
- **Janardhana G.R., Raveesha K.A., Shetty H.S.**1999.Mycotoxin contamination of maize grains grown in Karnataka (India), *Food Chem. Toxicol.*, 37, 863-868. In Tabuc Cristina. 2007. flore fongique de differents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse et de l'universite de Bucarest.
- **Jard Gwenaëlle.**2009.Etude de différents modes d'élimination biologique de la zéaralénone, mycotoxine présente dans les céréales: Adsorption et Biotransformation. These doctorat de l'université de Toulouse.
- **Jouany, J.P.** 2007. Vaches laitières et mycotoxines, l'étau se resserre. En attendant les outils de diagnostic. *PLM.* 383: p. 46-48.
- **Kali Sofia., Benidir Mohamed., Ait Kaci Karim., Belkheir Boussad., Benyoucef MT.**2011. Situation de la filière lait en Algérie: Approche analytique d'amont en aval, *Livestock Research for Rural Development.*, 23 (8) 2011.
- **Khosravil Ali Reza., Mohammad Dakhili., Hojjatollah Shokri.**2008. Mycological Survey on Feed Ingredients and Mixed Animal Feeds in Ghom Province, Iran. *Pakistan Journal of Nutrition.*, 7 (1): 31-34.
- **Kpodo K., Thrane U., Hald B .**2000.Fusaria and fumonisins in maize from Ghana and their co.occurrence with aflatoxins, *Int. J. Food Microbiol.*, 61 (33), 147-157. In Tabuc Cristina. 2007. flore fongique de differents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse et de l'universite de Bucarest.

- **Labuda R., Tancinová D.** 2006. Fungi recovered from Slovakian poultry feed mixtures and their toxinogenicity, *Ann. Agric. Environ. Med.*, 13 (2), 193-200. In Tabuc Cristina. 2007. flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse et de l'université de Bucarest.
- **Laca A., Mousia Z., Diaz M., Webb C., Pandiella S.S.** 2006. Distribution of microbial contamination within cereal grains. *Journal of Food Engineering* 72, 332-338.
- **Laure Magnier.** 1991. Utilisation des sous-produits de la vigne dans l'alimentation animale. E.N.S.S.A.A. - I.N.R.A. DIJON, France. Options Méditerranéennes - Série Séminaires - n.O 16 - : 89-99.
- **Laurent Folcher.** 2008. Efficacité comparée de méthodes de contrôle des bio-agresseurs du maïs (*Zea mays* L.). Recherche de descripteurs en vue d'une modélisation prévisionnelle pour gérer le risque mycotoxine. these présentée à l'université de pau et des pays de l'adour ecole doctorale des sciences exactes et de leurs applications.
- **Lewis L., Onsongo M., Njapau H., Schurz-Rogers H., Luber G., Kieszak S., Nyamongo J , Backer L , Dahiye A D , Misore A , De Cock K, Rubin C.** 2005. Aflatoxin Contamination of Commercial Maize Products during an Outbreak of Acute Aflatoxicosis in Eastern and Central Kenya, *Environ. Health Perspectives.*, 113, 1763-1767.
- **Limonard, A.** 1966. modified blotter test for seed health, *Netherlands Journal of Plant Pathology* 72 (1966)., pp. 319–321
- **Loussert, R., Brousse, G.** 1978. L'olivier. Editions GP Maisonneuve et Larose. 464p.
- **Magan. N., Olsen. M.** 2004. Mycotoxins in food Detection and control, Cambridge CB1 6AH, England, CRC Press LLC, 2000 Corporate Blvd, NW.
- **Marquardt, R.R. and A.A. Frohlich.** 1992. A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. *Journal of Animal Science.*, 70: p. 3968-3988.
- **Medina A., Valle-Algarra F.M., Mateo R., Gimeno-Adelantado J.V., Fernando Mateo., F., Jiménez M .** 2006. Survey of the mycobiota of Spanish malting barley and evaluation of the mycotoxin producing potential of species of *Alternaria*, *Aspergillus* and *Fusarium* , *Int J Food Microbiol.*, 108 (2), 196-203.
- **Meucci, V., E. Razzuoli., G. Soldani., and F. Massart.** 2010. Mycotoxin detection in infant formula milks in Italy, *Food Addit. Contam. Part A-Chem.*, 27(1):64-71.
- **Miller, J. D.** 1995. Fungi and mycotoxins in grain : Implication for stored products research, *J. Stored Prod. Res.*, 31(1), 1-6.

- **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, *J. Appl. Microbiol.*, **97**, 439–445.
- **Moussaoui, A, 1994**
دراسات ميكروبيولوجية علي الدرة في مختلف مراحل تحويلاتها الصناعية لمعمل مغنية
- **Nagy H. Aziz, Loutfy A.A. Mouss.2002.**Influence of gamma-radiation on mycotoxin producing moulds and mycotoxins in fruits, *Food Control.*,**13**,281–288.
- **Nakazato M., Morozumi S., Saito K., Fujinuma K., Nishima T., Kasai N.1990.** Interconversion of aflatoxin B1 and aflatoxicol by several fungi, *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 1465-1470. In Yiannikouris .A., J-P. Jouany.2002. Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal, *INRA Prod. Anim.*, **15** (1), 3-16.
- **Nedjraoui, D. 2001** .profil fourrager. Ministère de l'agriculture et du développement rural de l'Algérie. p 36. <http://www.fao.org/AG/AGP/agpc/doc/counprof/Algeria/Algerie.htm>, consulté le 24/12/2011.
- **Nepote M.C., Piontelli E., Saubois A .1997.** Occurrence of *Aspergillus flavus* strains in corn from Santa Fe, Argentina, *Arch. Latinoam. Nutr.*, **47** (3), 262-264.
- **Nielsen S. Suzanne.2010.**Food Analysis : Laboratory Manual. Second Edition, Springer New York Dordrecht Heidelberg London DOI 10.1007/978-1-4419-1463-7.
- **Nielsen S. Suzanne.2010.**Food Analysis. Fourth Edition, Springer New York Dordrecht Heidelberg London, DOI 10.1007/978-1-4419-1478-1.
- **Ono E.Y., Sugiura Y., Homechin M., Kamogae M., Vizzoni E., Ueno Y., Hirooka E.Y .1999.** Effect of climatic conditions on natural mycoflora and fumonisins in freshly harvested corn of the State of Panama, Brazil, *Mycopathologia*, **147** (3), 139-148. In Tabuc Cristina. 2007. flore fongique de differents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse et de l'universite de Bucarest.
- **Ozkan Ragip ., Joseph LSmilanick.,Ozgun Akgun Karabulut.2011.** Toxicity of ozone gas to conidia of *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, and *Botrytis cinerea* and control of gray mold on table grapes,*Postharvest Biology and Technology.*,**60** (2011) 47–51.
- **Pardo, E., S. Marin, V. Sanchis, A. J. Ramos .2004.** Prediction of fungal growth and ochratoxin A production by *Aspergillus ochraceus* on irradiated 140 barley grain as influenced by temperature and water activity, *Inter. J. Food Microbiol.*. **95**(1):79-88.
- **Pavel Kalac.2010.** The effects of silage feeding on some sensory and health attributes of cow's milk: A review., doi:10.1016/j.foodchem..08.077.

- **Pfohl-Leszkowicz, A.** 1999. Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque. Conseil supérieur d'hygiène publique de France, ed. T.EC et DOC.
- **Pitt, J. I.** 1987. *Penicillium viridicatum*, *Penicillium verrucosum*, and production of ochratoxin A, *Appl. Environ. Microb.*, 53, 266-269.
- **Pitt John I. et Hocking Ailsa D.** 2009. Fungi and Food Spoilage. Third edition, Springer Dordrecht Heidelberg London New York.
- **Pitt J.I. et Hocking A.D.** 1997. Fungi and Food Spoilage, 2nd ed. Aspen Publishers, Gaithersburg, MD.
- **Prelusky, D.B., D.M. Veira., H.L. Trenholm., and B.C. Foster .**1987. Metabolic fate and elimination in milk urine and bile of deoxynivalenol following administration to lactating sheep, *Journal of Environmental Science and Health.*, 22: p. 135-148.
- **Pruild, C.**2007. Les mycotoxines peuvent affaiblir les vaches laitières, *Réussir-Lait élevage.*, 209: p. 56.
- **Ramirez, Carlos.**1982. Manual and Atlas of Penicillia. New York (USA): Elsevier biomedical psers.
- **Reboux, G.** 2006. Mycotoxins: health effects and relationship to other organic compounds, *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique.*, 46, 208–212.
- **Riley R.T.**1998. Mechanistic interactions of mycotoxins: theoretical considerations. In Sinha K.K. et Bhatnagar D : Mycotoxins in Agriculture and Food Safety., (eds), 227-253. Marcel Dekker Inc., New york, USA.
- **Ruppol P.1., Delfosse Ph., Hornick J.-L.**2004. La contamination de la filière laitière par les mycotoxines : un risque pour la santé publique en Afrique subsaharienne, *Ann. Méd. Vét.*, 148, 141-146.
- **Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C., Filtenborg, O.** 1995. Introduction to food-borne fungi. Baarn: Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- **Scott P.M.**1998. Industrial and farm detoxification processes for mycotoxins, *Revue Méd. Vét.*, 149, 543-548.
- **Scudamore K.A., Patel S.**2000. Survey for aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and fumonisins in maize imported into the United Kingdom, *Food Addit. Contam.*, 17 (5), 407-416.
- **Shephard, G. S.** 2008. Impact of mycotoxins on human health in developing countries, *Food Addit. Contam. Part A-Chem.*, 25(2):146-151.

- **Smith, J.E., M.O. Moss.** 1985. *Mycotoxins : formation, analysis and significance.* ed. J. Wiley & sons, London.
- **Tabuc Cristina.** 2007. flore fongique de differents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse et de l'universite de Bucarest.
- **Trenk, H. L., Butz, M. E., Chu, F. S.** 1991. Production of ochratoxin in different cereal products by *Aspergillus ochraceus*, *Appl. Microbiol.*, 21, 1032-1035.
- **Tarr Braian.** 2003. Les moisissures et les mycotoxines - précautions à observer en cas de présence de blé contaminé par des moisissures et des mycotoxines dans l'alimentation des ruminants, Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires rurales, site page <http://omafra.gov.on.ca/french/livestock/dairy/herd/food/mico1.htm>, consulté le 5-5-2012.
- **Triki. S., Chabaca. R., Benmessaoud. N., Frioui. M., Tikialine. H.** 2008. Diversité des systèmes d'élevage ovin et stratégie d'amélioration de l'alimentation par l'utilisation des sous produits agricoles et agro-alimentaires., 17/06-009.
- **Tri M., Nguyen Minh.** 2007. Identification des espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialise dans cinq provinces de la région centrale du Vietnam - étude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines. Thèse docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse.
- **Upadhaya., Santi Devi., M. A. Park., Jong K. Ha.** 2010. Mycotoxins and Their Biotransformation in the Rumen: A Review, *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 23(9):1250-1260.
- **Varga, J., Kevei, E., Rimyu, E., Teren, J., Kazakiewicz, Z.** 1996. Ochratoxin production by* *Aspergillus* species, *Appl. Environ. Microb.*, 62, 4461-4464.
- **Vargas E.A., Preis R.A., Castro L., Silva C.M.** 2001. Co-occurrence of aflatoxins B1, B2, G1, G2, zearalenone and fumonisin B1 in Brazilian corn, *Food Addit. Contam.*, 18 (11), 981-986.
- **VDLUFA.** 2007. Standard operating procedure for identifying bacteria, yeasts, moulds and dematiaceae as product-typical and spoilage indicating microorganisms in feeds. In VDLUFA Method Book III, Suppl. 7 (ch. 28.1.3., 11 p).
- **Veldman, A., J. A. C. Meijs., G. J. Borggreve., and J. J. Heeresvandertol.** 1992. Carry-over of aflatoxin from cows food to milk, *Anim Prod.*, 55:163-168.
- **Whitlow, W., W.M. Hagler.** 2001. Mycotoxin contamination of feedstuffs - An additional stress factor for dairy cattle, in 25e symposium sur les bovins laitiers. October. Quebec.
- **Withlow L.M., Nebel R.L., Behlow R.F., Hagler W.M., Browie C.F.G.** 1986. Mycotoxins in North Carolina dairy feeds – a survey of 100 dairy farms, *J. Dairy Sci.*, 69 (suppl. 1), 223.

- In Yiannikouris .A., J-P. Jouany.2002. Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal, *INRA Prod. Anim.*, 15 (1), 3-16.
- **Yiannikouris .A., J-P. Jouany.**2002. Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal, *INRA Prod. Anim.*, 15 (1), 3-16.
 - **Zaidi. F., Hassissene. N., Boubekour. N., Bouaiche. A ., Bouabdellah. A., Grongnet. J F., Bellal. M. M., Youyou. A.** 2007. Etude in vitro de facteurs limitant la valeur nutritive du grignon d'olive: effets des matières grasses et des métabolites secondaires, 43-55-512.
 - **Zain. Mohamed E.**2010. Impact of mycotoxins on humans and animals, *Journal of Saudi Chemical Society.*, doi:10.1016/j.jscs.06.006.
 - **Zakaria .Z., Majerus. P.** 1992. A rapid, sensitive and economic method for the detection, quantification and confirmation of aflatoxins, *Zeitschrift fur Lebensmittel Untersuchung und-Forshung Spring-Verlag.*, 195, 4, 316-319.
 - **Zinedine Abdellah.** 2004. Détermination des mycotoxines dans les aliments et étude de la réduction des aflatoxines par les bactéries lactiques isolées des ferments panaires traditionnels. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah.

Annexe 01**Tableau : résultat des trois essayes et les moyennes de l'humidité relative des différents échantillons de maïs.**

Echantillons	%HR I	%HR II	%HR III	La moyenne
Echantillon 1	12,83	11,67	12,71	12,40
Echantillon 2	12,35	15,22	13,26	13,61
Echantillon 3	12,72	14,87	12,80	13,46
Echantillon 4	12,60	10,03	13,45	12,02
Echantillon 5	12,78	13,88	13,02	13,22
Echantillon 6	13,70	13,90	13,59	13,73
Echantillon 7	13,51	12,86	13,12	13,16
Echantillon 8	13,22	12,15	12,50	12,61

Tableau : résultat des trois essayes et les moyennes de l'humidité relative des différents échantillons de Tourteaux de soja.

Echantillons	%HR I	%HR II	%HR III	La moyenne
Echantillon 1	11,76	12,17	12,74	12,22
Echantillon 2	12,21	12,61	11,78	12,20
Echantillon 3	11,76	12,41	12,29	12,15
Echantillon 4	12,08	12,96	11,66	12,23
Echantillon 5	12,14	12,25	12,38	12,25
Echantillon 6	11,86	12,06	12,33	12,08
Echantillon 7	12,73	12,21	12,06	12,39
Echantillon 8	12,03	11,80	12,54	12,12

Tableau : résultat des trois essayes et les moyennes de l'humidité relative des différents échantillons de son.

Echantillons	%HR I	%HR II	%HR III	La moyenne
Echantillon 1	7,16	7,91	7,25	7,44
Echantillon 2	7,09	7,20	7,16	7,15
Echantillon 3	7,30	7,22	7,84	7,45
Echantillon 4	7,25	7,55	6,90	7,23
Echantillon 5	7,23	7,11	7,05	7,13
Echantillon 6	6,96	7,02	7,06	7,01
Echantillon 7	7,08	7,18	7,65	7,30
Echantillon 8	7,35	7,60	7,13	7,36

Tableau : résultat des trois essayes et les moyennes de l'humidité relative des différents échantillons de Alimentation finale.

Echantillons	%HR I	%HR II	%HR III	La moyenne
Echantillon 1	12,04	12,12	13,02	12,40
Echantillon 2	11,97	11,86	11,91	11,91
Echantillon 3	11,93	12,02	12,15	12,04
Echantillon 4	11,81	11,91	11,97	11,90
Echantillon 5	12,21	12,20	12,06	12,15
Echantillon 6	11,87	11,73	12,04	11,88
Echantillon 7	12,20	11,85	12,25	12,10
Echantillon 8	11,78	12,02	12,14	11,98

Annexe 02**Tableau : résultat des trois essayes et les moyennes du pH des différents échantillons de maïs.**

Echantillons	pH I	pH II	pH III	La moyenne
Echantillon 1	06,60	06,30	06,12	06,34
Echantillon 2	05,85	05,70	06,00	05,85
Echantillon 3	06,10	06,05	06,08	06,07
Echantillon 4	06,06	06,13	06,11	06,10
Echantillon 5	05,88	05,97	06,03	05,96
Echantillon 6	05,50	05,30	05,10	05,30
Echantillon 7	06,01	05,98	06,02	06,00
Echantillon 8	06,07	05,90	05,80	05,92

Tableau : résultat des trois essayes et les moyennes du pH des différents échantillons de Tourteaux de soja

Echantillons	pH I	pH II	pH III	La moyenne
Echantillon 1	06,80	07,05	07,00	06,95
Echantillon 2	07,07	07,00	07,08	07,05
Echantillon 3	06,70	06,85	06,93	06,64
Echantillon 4	07,00	07,01	07,05	07,02
Echantillon 5	06,99	07,01	06,90	06,96
Echantillon 6	07,03	06,80	06,90	06,71
Echantillon 7	06,90	07,02	06,96	06,96
Echantillon 8	06,80	06,95	06,98	06,91

Tableau : résultat des trois essayes et les moyennes du pH des différents échantillons de son

Echantillons	pH I	pH II	pH III	La moyenne
Echantillon 1	06,70	06,64	06,66	06,66
Echantillon 2	06,80	06,51	06,63	06,64
Echantillon 3	06,97	06,84	06,97	06,92
Echantillon 4	06,74	06,71	06,87	06,77
Echantillon 5	06,96	06,77	06,83	06,85
Echantillon 6	06,95	06,79	06,81	06,85
Echantillon 7	06,77	06,83	06,90	06,83
Echantillon 8	06,93	06,86	06,88	06,89

Tableau : résultat des trois essayes et les moyennes du pH des différents échantillons de l'alimentation finale des bétails.

Echantillons	pH I	pH II	pH III	La moyenne
Echantillon 1	06,46	06,49	06,30	06,41
Echantillon 2	06,36	06,30	06,41	06,35
Echantillon 3	06,48	06,63	06,60	06,57
Echantillon 4	06,79	06,83	06,80	06,80
Echantillon 5	06,52	06,47	06,43	06,47
Echantillon 6	06,68	06,75	06,72	06,72
Echantillon 7	06,70	06,65	06,63	06,66
Echantillon 8	06,72	06,69	06,81	06,74

Annexe 03**Tableau : les moyennes du taux de germination des échantillons de maïs analysés par la méthode du buvard et méthode du buvard modifiée.**

Echantillons de Maïs	Taux de germination (%)	
	Méthode du buvard	Méthode du buvard modifiée
Echantillon 1	48	66
Echantillon 2	36	63
Echantillon 3	50	71
Echantillon 4	48	65
Echantillon 5	47	46
Echantillon 6	31	53
Echantillon 7	45	62
Echantillon 8	36	57
Moyenne	42,625	60,375

Tableau : les moyennes du taux de contamination des échantillons de maïs analysés par la méthode du buvard et méthode du buvard modifiée.

Echantillons de Maïs	Taux de contamination (%)	
	Méthode du buvard	Méthode du buvard modifiée
Echantillon 1	62	38
Echantillon 2	86	40
Echantillon 3	68	38
Echantillon 4	58	36
Echantillon 5	72	46
Echantillon 6	84	54
Echantillon 7	78	42
Echantillon 8	82	48
Moyenne	73,75	42,75

Annexe 04**Tableau : Pourcentage d'apparition des principaux genres contaminant le maïs, analysé par la méthode du buvard.**

Echantillons de Maïs	Taux de contamination (%)			
	<i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Rhizopus</i>
Echantillon 1	30,50	03,50	20,00	46,00
Echantillon 2	33,34	00,00	33,33	33,33
Echantillon 3	26,00	04,00	30,00	40,00
Echantillon 4	41,26	15,89	14,28	28,57
Echantillon 5	16,90	06,20	25,60	51,30
Echantillon 6	26,80	05,40	31,15	36,65
Echantillon 7	24,30	01,70	26,00	48,00
Echantillon 8	27,20	01,00	32,60	39,20
Moyenne	28,2875	4,71125	26,62	40,38125

Tableau : Pourcentage d'apparition des principaux genres contaminant le maïs, analysé par la méthode du buvard modifiée.

Echantillons de Maïs	Taux de contamination (%)			
	<i>Aspergillus</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Rhizopus</i>
Echantillon 1	33,50	00,00	66,50	00,00
Echantillon 2	39,40	04,60	56,00	00,00
Echantillon 3	40,00	01,30	58,70	00,00
Echantillon 4	29,60	00,00	70,40	00,00
Echantillon 5	10,20	20,20	69,60	01,50
Echantillon 6	20,00	06,60	73,40	00,00
Echantillon 7	38,80	12,65	48,55	00,00
Echantillon 8	41,20	12,47	46,33	00,00
Moyenne	31,5875	7,04	61,185	0,1875

Annexe 05**Tableau : les moyennes du taux de contamination des échantillons de maïs analysés par la méthode de dilution.**

Echantillons	Taux de contamination x 10²UFC/g
Echantillon 1	33,27
Echantillon 2	47,78
Echantillon 3	34,50
Echantillon 4	26,05
Echantillon 5	43,87
Echantillon 6	50,33
Echantillon 7	40,10
Echantillon 8	44,66
La moyenne	40,07

Tableau : les moyennes du taux de contamination des échantillons des Tourteaux de soja analysés par la méthode de dilution.

Echantillons	Taux de contamination x 10²UFC/g
Echantillon 1	21,10
Echantillon 2	19,17
Echantillon 3	17,32
Echantillon 4	22,65
Echantillon 5	22,34
Echantillon 6	14,63
Echantillon 7	21,43
Echantillon 8	16,80
La moyenne	19,43

Tableau : les moyennes du taux de contamination des échantillons du son analysés par la méthode de dilution.

Echantillons	Taux de contamination x 10²UFC/g
Echantillon 1	28,28
Echantillon 2	22,43
Echantillon 3	27,76
Echantillon 4	24,50
Echantillon 5	21,34
Echantillon 6	22,24
Echantillon 7	23,08
Echantillon 8	22,13
La moyenne	23,97

Tableau : les moyennes du taux de contamination des échantillons de l'alimentation finale analysés par la méthode de dilution.

Echantillons	Taux de contamination x 10²UFC/g
Echantillon 1	60,60
Echantillon 2	54,89
Echantillon 3	56,45
Echantillon 4	53,77
Echantillon 5	59,86
Echantillon 6	53,00
Echantillon 7	57,75
Echantillon 8	54,80
La moyenne	56,39

Annexe 06

Tableau : les moyennes du taux de contamination et la fréquence d'apparition des espèces moisissures contaminants le maïs, Tourteaux de soja, Son, et Alimentation finale des bétails analysé par la méthode de dilution (résultat sur milieu PDA, valeurs x 10² UFC/g).

	Maïs	Tourteaux de soja	Son	Alimentation finale
<i>Aspergillus spp</i>	16,72	08,55	10,62	33,54
<i>Aspergillus flavus</i>	08,36	05,13	02,06	13,41
<i>Aspergillus niger</i>	02,51	02,13	02,74	08,38
<i>Aspergillus ochraceus</i>	00,00	00,00	01,86	00,00
<i>Aspergillus parasiticus</i>	01,67	00,00	00,00	01,67
<i>Aspergillus terreus</i>	00,00	00,00	00,00	03,35
<i>Aspergillus fumigatus</i>	00,00	00,00	01,11	00,00
<i>Aspergillus clavatus</i>	04,18	01,28	02,83	06,70
<i>Penicillium spp</i>	04,18	09,10	03,99	18,98
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	00,62	02,73	00,00	05,69
<i>Penicillium chrysogenum</i>	01,04	02,36	01,88	00,00
<i>Penicillium crustosum</i>	00,00	01,27	00,00	03,79
<i>Penicillium griseofulvum</i>	00,00	00,00	01,49	00,00
<i>Penicillium rugulosum</i>	00,00	01,82	00,00	00,00
<i>Penicillium verruculosum</i>	02,09	00,00	00,00	09,49
<i>Fusarium</i>	12,54	00,00	00,00	02,53
<i>Cladosporium</i>	00,00	00,00	01,28	00,00
<i>Ulocladium</i>	00,00	00,00	03,01	05,06
<i>Alternaria</i>	00,00	00,18	04,03	00,00
<i>Rhizopus</i>	08,36	00,36	02,81	03,16
Totale	41,80	18,20	25,78	63,29

Annexe 07

Tableau : les moyennes du taux de contamination et la fréquence d'apparition des espèces moisissures contaminants le maïs, Tourteaux de soja, Son, et Alimentation finale des bétails analysé par la méthode de dilution (résultat sur milieu CDA, valeurs x 10² UFC/g).

	Maïs	Tourteaux de soja	Son	Alimentation finale
<i>Aspergillus spp</i>	21,09	12,39	15,51	32,17
<i>Aspergillus flavus</i>	16,87	11,15	10,85	22,51
<i>Aspergillus niger</i>	03,16	00,53	01,55	03,21
<i>Aspergillus ochraceus</i>	00,00	00,00	00,00	00,00
<i>Aspergillus parasiticus</i>	00,00	00,00	00,00	00,00
<i>Aspergillus terreus</i>	00,00	00,00	00,00	00,00
<i>Aspergillus fumigatus</i>	00,00	00,00	00,00	00,00
<i>Aspergillus clavatus</i>	01,05	00,53	03,10	06,43
<i>Penicillium spp</i>	13,42	08,26	02,21	07,42
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	01,34	04,95	00,22	02,96
<i>Penicillium chrysogenum</i>	00,00	00,00	00,00	01,48
<i>Penicillium crustosum</i>	00,00	01,65	00,66	00,00
<i>Penicillium griseofulvum</i>	00,00	00,82	01,10	00,00
<i>Penicillium rugulosum</i>	04,02	00,00	00,00	00,00
<i>Penicillium verruculosum</i>	06,71	00,00	00,00	02,22
<i>Fusarium</i>	01,91	00,00	00,00	00,00
<i>Cladosporium</i>	00,00	00,00	00,00	00,00
<i>Ulocladium</i>	00,00	00,00	01,10	03,46
<i>Alternaria</i>	00,00	00,00	01,10	02,47
<i>Rhizopus</i>	01,91	00,00	02,21	03,96
Totale	38,35	20,66	22,17	49,50

Annexe 08

Tableau : les moyennes du taux de contamination et la fréquence d'apparition des espèces moisissures contaminants le maïs, Tourteaux de soja, Son, et Alimentation finale des bétails analysé par la méthode de dilution (résultat sur milieu PDA et CDA, valeurs x 10² UFC/g).

	Maïs	Tourteaux de soja	Son	Alimentation finale
<i>Aspergillus spp</i>	18,90	10,47	13,06	32,85
<i>Aspergillus flavus</i>	12,61	08,14	06,45	17,96
<i>Aspergillus niger</i>	02,83	01,33	00,93	05,79
<i>Aspergillus ochraceus</i>	00,00	00,00	00,93	00,00
<i>Aspergillus parasiticus</i>	00,83	00,00	00,00	00,83
<i>Aspergillus terreus</i>	00,00	00,00	00,00	01,67
<i>Aspergillus fumigatus</i>	00,00	00,00	00,55	00,00
<i>Aspergillus clavatus</i>	02,61	0,905	02,96	06,56
<i>Penicillium spp</i>	08,80	08,68	03,10	13,20
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	00,98	03,84	00,11	04,32
<i>Penicillium chrysogenum</i>	00,52	01,18	00,94	00,74
<i>Penicillium crustosum</i>	00,00	01,46	00,33	01,89
<i>Penicillium griseofulvum</i>	00,00	00,41	01,29	00,00
<i>Penicillium rugulosum</i>	02,01	00,91	00,00	00,00
<i>Penicillium verruculosum</i>	04,40	00,00	00,00	05,85
<i>Fusarium</i>	07,22	00,00	00,00	01,26
<i>Cladosporium</i>	00,00	00,00	00,64	00,00
<i>Ulocladium</i>	00,00	00,00	02,05	04,26
<i>Alternaria</i>	00,00	00,09	02,56	01,23
<i>Rhizopus</i>	05,13	00,18	02,51	03,56
Totale	40,07	19,43	23,97	56,39

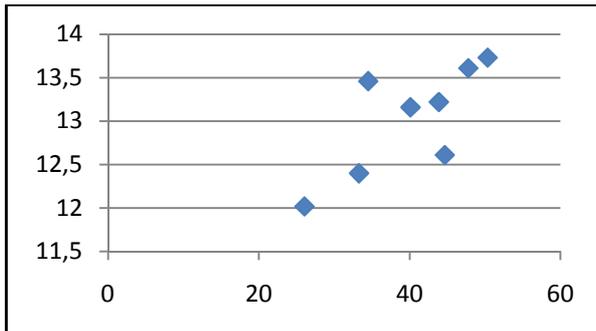
Annexe 09

Figure : la corrélation entre le taux de contamination et le l'humidité relative des échantillons du maïs (HR est en fonction de taux de contamination, et le coefficient de corrélation $r = 0,74663481$).

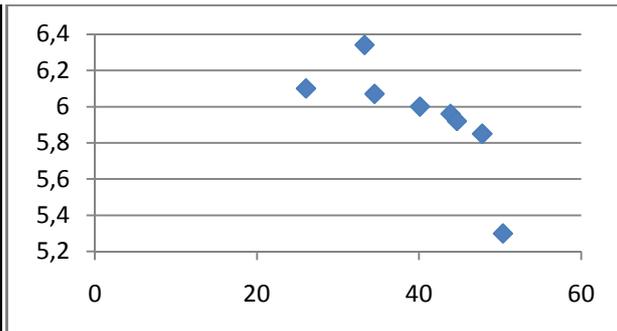


Figure : la corrélation entre le taux de contamination et le pH des échantillons du maïs (le pH est en fonction de taux de contamination, et le coefficient de corrélation $r = -0,7532944$).

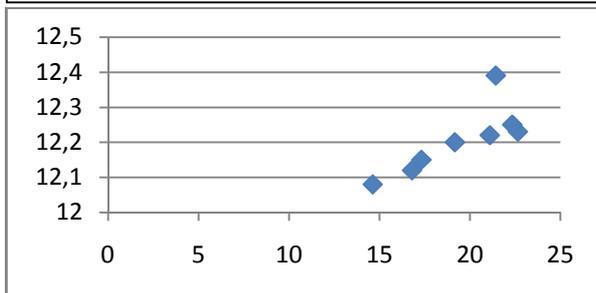


Figure : la corrélation entre le taux de contamination et le l'humidité relative des échantillons des tourteaux de soja (HR est en fonction de taux de contamination, et le coefficient de corrélation $r = 0,79522103$).

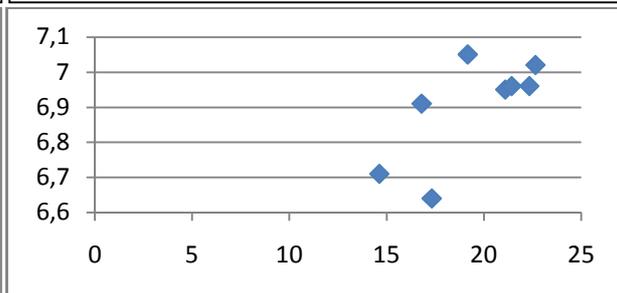


Figure : la corrélation entre le taux de contamination et le pH des échantillons des tourteaux de soja (le pH est en fonction de taux de contamination, et le coefficient de corrélation $r = 0,71836499$).

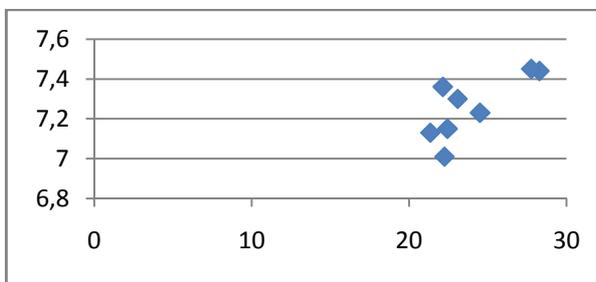


Figure : la corrélation entre le taux de contamination et le l'humidité relative des échantillons du son (HR est en fonction de taux de contamination, et le coefficient de corrélation $r = 0,75297493$).

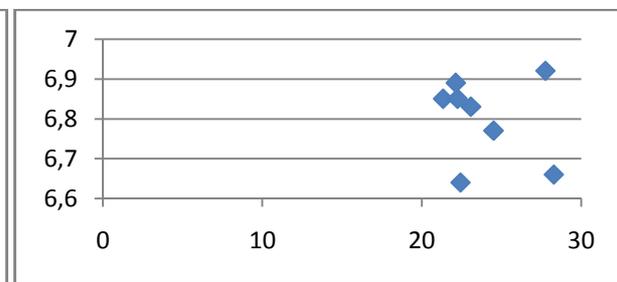


Figure : la corrélation entre le taux de contamination et le pH des échantillons du son (le pH est en fonction de taux de contamination, et le coefficient de corrélation $r = -0,1707142$).

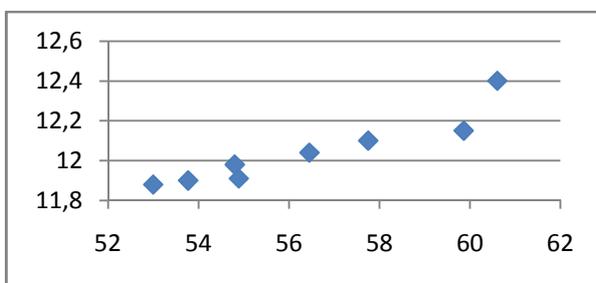


Figure : la corrélation entre le taux de contamination et le l'humidité relative des échantillons de l'alimentation finale des bétails (HR est en fonction de taux de contamination, et le coefficient de corrélation $r = 0,93558607$).

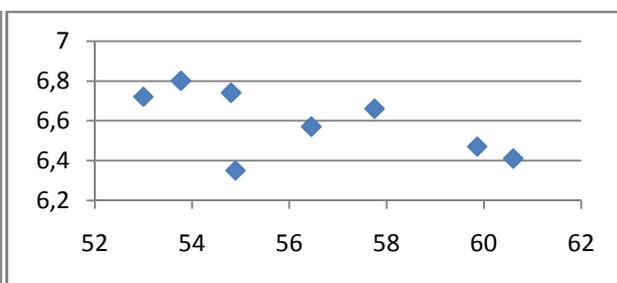


Figure : la corrélation entre le taux de contamination et le pH des échantillons de l'alimentation finale des bétails (le pH est en fonction de taux de contamination, et le coefficient de corrélation $r = -0,59943043$).

Annexe 10**Composition des milieux de culture****Milieu PDA (Potatoes Dextrose agar)**

Pomme de terre (macération 500ml de filtrat)	200 g
Sucrose	10 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000ml

Milieu CDA (Czapek Dox Agar)

Sucrose	30 g
KH ₂ PO ₄	1 g
KCL	0.5 g
MgSO ₄	0.5 g
FeSO ₄	0.01 g
NaNO ₃	3 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000ml

Milieu DRBC (Dichloron Rose Bengal Chloramphénicol)

Glucose	10g
Peptone bactériologique	5g
K ₂ H PO ₄	1g
Mg SO ₄ 7H ₂ O	0.5g
RoseBengal	25mg
Chloramphénicol	100mg
Dichloron	2mg
Agar	15g
Eau distillée	1000ml

(Czapek Concentre)

NaNO ₃	30 g
KCL	5 g
MgSO ₄	5 g
FeSO ₄	0.1 g
Eau distillée	100 ml

Milieu MEA (Malt Extract Agar)

Matière Sèche	50 g
Agar	5 g
Eau distillée	1000ml

Annexe 11**Milieu YES (Yeast Extract Sucrose)**

Sucrose	40 g
Extrait de Levure	20 g
Eau distillée	1000ml

Milieu CYA (Czapek Yeast Agar)

Czapek Concentre	10 ml
KH ₂ PO ₄	1 g
Extrait de levure	5 g
Sucrose	30 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000ml

Milieu G25N (25 % Glycérol Nitrate Agar)

KH ₂ PO ₄	0.75 g
Czapek Concentre	7.5 ml
Extrait de levure	3.7 g
glycerol	250 g
Agar	12 g
Eau distillée	750 ml

Milieu AFPA (Milieu Selectif pour A.flavus et A.parasiticus)

Extrait de levure	20 g
peptone	10 g
Citrate ferrique ammoniacal	0.5 g
chloramphenicol	0.1 g
Dichloran solution ethaolique à 0.2%	1 ml
Agar	15 g
Eau distillée	1000ml

Eau physiologique

NaCl	9 g
Eau distillée	1000ml

Lactophenol

Phénol pur cristallisé	20 g
Acide lactique	20 ml
Glycérol pur	20 ml
Eau distillée	40 ml

Rose Bengal

Rose bengal	1 g
Eau distillée	100 ml

Annexe 12

(A)

Types d'aliments	Teneur maximale en µg/kg (teneur en humidité de 12%)
Toutes les matières premières des aliments pour animaux	20
Aliments complets pour bovins, ovins et caprins à l'exception de :	20
- aliments complets pour bétail laitier	5
- aliments complets pour veaux et agneaux	10
Aliments complets pour porcs et volailles (à l'exception des jeunes animaux)	20
Autres aliments complets	10
Aliments complémentaires pour bovins, ovins et caprins (à l'exception des aliments complémentaires pour bétail laitiers, veaux et agneaux)	20
Aliments complémentaires pour porcs et volailles (à l'exception des jeunes animaux)	20
Autres aliments complémentaires	5

(B)

Matrice	Teneur maximale en µg/kg (teneur en humidité de 12%)
Matières premières entrant dans la compositions des aliments pour animaux : céréales, produits et sous produits de céréales et fourrages	250
Aliments complémentaires et complets pour :	
- les porcs	50
- les volailles	100

Tableau : Teneurs maximales tolérées en AFB1 (A) et recommandées en OTA (B) en alimentation animale (en µg/kg). (D'après les directives européennes 2002/32/CE et 2006/576/CE).

Annexe 13

Tableau: Niveaux maximaux tolérés de mycotoxines dans les produits d'alimentation humaine, les produits laitiers et les produits d'alimentation animale (étude 2002/2003)(FAO,2003).

Paÿs	Produits	(Somme des mycotoxine(s))	Limite (µg/kg)	Echelle juridique	Autorité compétente	Méthode d'échantillonnage situation	Méthode d'analyse situation	ref.	Observations
AFRIQUE DU SUD [ZA] 2003									
Produits d'alimentation humaine									
	tous les produits d'alimentation humaine	afla B1	5	ZA1	DH	officielle	non officielle		en vigueur depuis 1990
		afla B1B2G1G2	10						en vigueur depuis 1990; un projet est en cours de rédaction afin d'accroître la limite pour les aflatoxines dans les arachides destinées à une transformation ultérieure et la pousser à 15µg/kg. de manière à la mettre en conformité avec le niveau prescrit par le CODEX
		patuline	50						en vigueur depuis 1995
Produits laitiers									
	lait	afla M1	0,05	ZA1	DH				en vigueur depuis 1995
ALGERIE [DZ] 2003									
Produits d'alimentation humaine									
	arachides, fruits à coque, céréales	afla B1	10		MT	non officielle	officielle	DZ1	
		afla B1B2G1G2	20						
Produits d'alimentation animale									
	aliments pour bétail	afla B1	20		MT	non officielle	officielle	DZ2	

Annexe 14**Multiple Linear Regression**

mardi, mai 01, 2012, 11:32:10

Data source: Data 1 in Notebook 1

$$\text{Col 3} = 102.136 + (1.691 * \text{Col 1}) - (13.112 * \text{Col 2})$$

N = 32 Missing Observations = 1

R = 0.528 Rsqr = 0.279 Adj Rsqr = 0.229

Standard Error of Estimate = 13.579

	Coefficient	Std. Error	t	P	VIF
Constant	102.136	51.133	1.997	0.055	
Col 1	1.691	1.195	1.414	0.168	1.300
Col 2	-13.112	6.607	-1.985	0.057	1.300

Analysis of Variance:

	DF	SS	MS	F	P
Regression	2	2069.460	1034.730	5.611	0.009
Residual	29	5347.665	184.402		
Total	31	7417.124	239.262		

Column	SSIncr	SSMarg
Col 1	1343.212	368.787
Col 2	726.248	726.248

The dependent variable Col 3 can be predicted from a linear combination of the independent variables:

	P
Col 1	0.168
Col 2	0.057

Not all of the independent variables appear necessary (or the multiple linear model may be underspecified).
The following appear to account for the ability to predict Col 3 ($P < 0.05$): [None]

Normality Test: Failed (P = 0.001)

Constant Variance Test: Passed (P = 0.170)

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.886