



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences agronomiques



Ref : .....

Thèse en vue de l'obtention du diplôme de

**Doctorat en sciences agronomiques**

Option : Production animale

Thème :

**Détection des mycotoxines dans certains produits  
alimentaires dans l'Est algérien**

Présentée par :  
**Laouni Chahinez**

Soutenue publiquement le : 17/10/2024

**Devant le jury composé de**

Mme. Deghnouche Kahramen	Professeur	Université de Biskra	Président
Mr. Messai Ahmed	Professeur	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. Redouane Salah Sara	Professeur	Université de Biskra	Corapporteur
Mr. Mammeri Adel	MCA	Université de M'sila	Examineur
Mme. Farhi Kamilia	Professeur	Université de Biskra	Examineur



## Remerciement

Tout d'abord, je remercie le Tout-Puissant *Allah* de m'avoir donné le courage, la volonté, la patience et la force d'accomplir ce modeste travail.

Mes sincères remerciements vont à mon directeur de thèse *Messaï Ahmed* et la co-directrice Madame *Redouane Salah Sara*, pour leur patience, leur disponibilité et leurs judicieux conseils qui ont été d'une aide précieuse tout au long de ce travail.

Je tiens à exprimer ma plus profonde gratitude à tous les membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail de recherche. Je remercie particulièrement professeur *Deghnouche Kahramen*, présidente du jury, pour son expertise et ses conseils précieux tout au long de ce projet.

Je suis également très reconnaissante au Professeur *Farhi Kamilia* de l'Université de Biskra pour ses remarques constructives et son accompagnement, ainsi qu'à Monsieur le Docteur *Mammeri Adel* de l'Université de M'sila pour ses observations pertinentes et ses suggestions qui ont grandement enrichi ce travail.

Je remercie chaleureusement toute l'équipe des laboratoires *DEDSPAZA, CRAPC* de Ouargla, *CRBT* de Constantine, et *PIARA* pour leur accueil, leur soutien et les moyens mis à ma disposition pour mener à bien cette recherche.

Mes sincères remerciements aux membres du laboratoire de chimie analytique de la faculté des sciences de Grenade en Espagne, de m'avoir bien accueillie et avoir contribué à ce travail, et notamment à leur cheffe *Ana M. Garcia-Campaña*.

Enfin, j'adresse mes remerciements à tous mes proches et amis, qui m'ont soutenue et encouragée tout au long de mon cursus.

*Laouni Thahinez*

## Dédicaces

Je dédie ce travail, fruit de plusieurs années d'efforts et de persévérance...

À **mes chers parents**, pour leur amour indéfectible et leurs innombrables sacrifices. Ce travail représente l'aboutissement de vos précieux encouragements et votre soutien inconditionnel. Puisse cette réussite être à la hauteur de vos espérances et la fierté de votre dévouement.

À mon époux bien-aimé **Mahdi**, compagnon de vie, d'une patience et d'un réconfort sans égal. Ta présence rassurante à mes côtés et tes mots bienveillants ont été le baume apaisant les doutes, toi qui as sacrifié tant de moments pour me permettre d'avancer sereinement.

À mon cher fils **Acil**, la lumière de ma vie et la source intarissable de mon courage  
À ma très chère sœur, **Inès**, et à mes frères, **Arslane, Djallel et Alaeddine**, dont la tendresse fraternelle et l'appui indéfectible ont adouci les moments les plus ardues.

À **mes beaux-parents**, et ma belle-sœur **Asma**, qui ont cru en moi dès les premiers instants et m'ont encouragée avec bienveillance tout au long de ce parcours. Votre confiance et vos paroles réconfortantes ont été ma plus grande motivation.

A mon beau-frère **Walid**

À mes belles-sœurs **Amira** et **Lamisse**,

A mes neveux et nièces

À **mes chers amis** et à toute **ma famille** qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail par leurs prières et leurs vœux de réussite.

*Laouni Thahinez*

## Résumé

Cette étude, réalisée dans le cadre d'une thèse de doctorat, a fait l'objet d'une évaluation de l'état actuel de l'industrie de production d'œufs dans l'est de l'Algérie à travers une vaste enquête sur terrain. Une analyse mycologique a été effectuée sur des échantillons d'aliments pour volailles afin d'évaluer les niveaux de contamination fongique. En outre, l'investigation a rigoureusement analysé à la fois les aliments pour volailles et les œufs destinés à la consommation humaine pour détecter la présence de mycotoxines émergentes et de l'*Ochratoxine A*, des contaminants alimentaires répandus. Des techniques analytiques de pointe UHPLC-MS/MS ont été employées pour examiner 10 échantillons d'aliments pour poules pondeuses et 35 échantillons groupés d'œufs lyophilisés. Les résultats ont révélé la présence de la *beauvericine* dans 1 échantillon d'aliment à  $12 \text{ ng.g}^{-1}$ , ainsi que de l'*enniatine B1*, contaminant 9 échantillons d'aliments avec des concentrations allant de  $3,6$  à  $41,5 \text{ ng.g}^{-1}$ . Aucune des mycotoxines ciblées n'a été détectée dans les échantillons d'œufs analysés. Dans une investigation parallèle utilisant un kit ELISA hautement sensible, 42 échantillons d'aliments pour volailles ont été minutieusement analysés pour l'*Ochratoxine A*. 26 échantillons (62%) dépassaient la limite de quantification de  $1,5 \text{ ng.g}^{-1}$ , avec des niveaux d'*Ochratoxine A* allant de  $2,23$  à  $3,23 \text{ ng.g}^{-1}$  et un niveau moyen de contamination de  $2,59 \text{ ng.g}^{-1}$ . Cette étude souligne le besoin crucial de mettre en place des mesures de contrôle et de surveillance strictes tout au long de la chaîne d'approvisionnement en aliments pour volailles algérienne afin d'atténuer les risques posés par les mycotoxines. La mise en œuvre effective de telles stratégies préventives est primordiale pour garantir les normes de sécurité alimentaire et protéger la santé publique des effets indésirables potentiels associés à ces contaminants toxiques.

### Mots clés :

Mycotoxines- Aliment- Œufs – *Enniatines* - *Ochratoxine A*- ELISA- UHPLC-MS/MS

## Abstract

This study, conducted as part of a thesis research, comprehensively evaluated the current state of the egg production industry in eastern Algeria through an extensive field survey. A detailed mycological analysis was performed on poultry feed samples to assess fungal contamination levels. Furthermore, the investigation rigorously analyzed both poultry feed and eggs intended for human consumption to detect the presence of emerging mycotoxins and the prevalent food contaminant ochratoxin A. Cutting-edge UHPLC-MS/MS analytical techniques were employed to examine 10 laying hen feed samples and 35 pooled freeze-dried egg samples. The results unveiled the presence of the emerging mycotoxin *beauvericin* in 1 feed sample at 12 ng.g<sup>-1</sup>, as well as *enniatin B1*, another emerging mycotoxin, contaminating 9 feed samples with concentrations ranging from 3.6 to 41.5 ng.g<sup>-1</sup>. Notably, none of the targeted mycotoxins were detected in the analyzed egg samples. In a parallel investigation using a highly sensitive ELISA kit, 42 poultry feed samples were meticulously screened for ochratoxin A. Alarmingly, 26 samples (62%) exceeded the limit of quantification of 1.5 ng.g<sup>-1</sup>, with ochratoxin A levels ranging from 2.23 to 3.23 ng.g<sup>-1</sup> and an average contamination level of 2.59 ng.g<sup>-1</sup>. This comprehensive thesis study underscores the crucial need for implementing stringent monitoring and control measures throughout the Algerian poultry feed supply chain to mitigate the risks posed by mycotoxins contamination. Effective implementation of such preventive strategies is paramount to safeguarding food safety standards and protecting public health from the potential adverse effects associated with these toxic contaminants.

## Keywords:

Mycotoxines- Feed- Eggs– *Enniatines* - *Ochratoxine A*- ELISA- UHPLC-MS/M

## الملخص

في هذه الدراسة، التي أجريت في إطار التحضير لأطروحة دكتوراه، تم تقييم الوضع الحالي لصناعة إنتاج البيض في شرق الجزائر بشكل شامل من خلال تحقيق ميداني. ثم إجراء تحليل فطري لعينات أعلاف الدواجن لتقييم مستويات التلوث الفطري. علاوة على ذلك، شملت الدراسة القيام بتحليل كل من أعلاف الدواجن والبيض المعد لاستهلاك الإنسان للكشف عن وجود السموم الفطرية الناشئة والأوكراتوكسين أ، وهو ملوث غذائي شائع. تم استخدام تقنية تحليلية تتمثل في التحليل الكروماتوغرافي السائل عالي الأداء لقياس الطيف الكتلي الترادفي لفحص 10 عينات من أعلاف الدجاج البيوض و35 عينة مجمعة من البيض المجفف بالتجميد. كشفت النتائج عن وجود السم الفطري الناشئ بوفيرييسين في عينة علف واحدة بتركيز 12 نانوغرام/غرام، فضلاً عن إنباتين ب 1، الذي لوث 9 عينات من الأعلاف بتركيزات تتراوح بين 3.6 و41.5 نانوغرام/غرام. من الجدير بالذكر أنه لم يتم اكتشاف أي من السموم الفطرية المستهدفة في عينات البيض التي تم تحليلها. في تحقيق موازٍ باستخدام مجموعة اختبار ELISA عالية الحساسية، تم فحص 42 عينة من أعلاف الدجاج البيوض بدقة للكشف عن الأوكراتوكسين أ. حيث تجاوزت 26 عينة (62%) حد الكمية القابل للقياس البالغ 1.5 نانوغرام/غرام، حيث تراوحت مستويات الأوكراتوكسين أ بين 2.23 و3.23 نانوغرام/غرام ومتوسط التلوث 2.59 نانوغرام/غرام. تسلط هذه الدراسة الشاملة للأطروحة الضوء على الحاجة الملحة لتنفيذ تدابير مراقبة ورصد صارمة على طول سلسلة إمداد أعلاف الدواجن في الجزائر للحد من المخاطر التي تشكلها السموم الفطرية. من الأهمية تنفيذ هذه الاستراتيجيات الوقائية بفعالية لضمان معايير سلامة الأغذية وحماية الصحة العامة من الآثار الضارة المحتملة المرتبطة بهذه الملوثات السامة.

**الكلمات المفتاحية:** السموم الفطرية، أعلاف الدجاج، بيوض، أوكراتوكسين أ، إنباتين، ELISA، UHPLC-MS/MS

### Liste des publications scientifiques

- Laoui, C., Lara, F. J., Messai, A., Redouane-Salah, S., Hernández-Mesa, M., Gámiz-Gracia, L., & García-Campaña, A. M. (2024). Emerging mycotoxin occurrence in chicken feed and eggs from Algeria. *Mycotoxin Research*, 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12550-024-00537-2>
- Laoui, C., Messai, A., Redouane-Salah, S., & Djeghim, H. (2024). Assessment of ochratoxin A occurrence in poultry feed in eastern Algeria. *International Journal of Environmental Studies*, 1-12. DOI: <https://doi.org/10.1080/00207233.2024.2369448>

## Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

01

### Chapitre I : Revue bibliographique

I. Généralités sur les moisissures et les mycotoxines 04

I.1. Les moisissures 04

I.2. Les champignons mycotoxinogènes 05

I.2.1. Généralités 05

I.2.2. Identification des champignons 06

I.2.2.1. Caractères morphologiques 06

I.2.2.2. Caractères biochimiques et moléculaires 06

I.2.3. Etude morphologique et moléculaire de quelques genres de moisissures 07

I.2.3.1. *Aspergillus* 07

I.2.3.2. *Penicillium* 11

I.2.3.3. *Fusarium* 12

I.2.3.4. *Claviceps* 13

II. Les mycotoxines 14

II.1. Généralités 14

II.2. La mycotoxinogénèse 15

II.2.1. Facteurs intrinsèques 15

II.2.2. Facteurs extrinsèques 16

II.2.3. Autres facteurs 17

II.2.4. Le classement des mycotoxines selon la voie de biosynthèse 17

III. Les principales mycotoxines 17

III.1. Les Aflatoxines 18

III.2. Les Fumonisines 19

III.3. La Zearalenone 20

III.4. Les Trichothécènes 20

III.5. Les Ochratoxines 21

III.5.1. L'Ochratoxine A (OTA) 21

III.5.1.1. Propriétés physico-chimiques et la nature d'OTA 22

III.5.1.2. Facteurs influençant la production d'OTA 22

III.5.1.3. Toxicité de l'OTA	23
III.6. Les mycotoxines émergentes	23
III.6.1. <i>Les Enniatines</i>	24
III.6.1.1. Propriétés physico-chimiques et la nature des <i>Enniatines</i>	24
III.6.1.2. Facteurs influençant la production des <i>Enniatines</i>	25
III.6.1.3. Toxicité des <i>Enniatines</i>	25
III.6.2. La <i>Beauvericine</i>	26
III.6.2.1. Propriétés physico-chimiques et la nature de la <i>Beauvericine</i>	26
III.6.2.2. Facteurs influençant la production de la <i>Beauvericine</i>	27
III.6.2.3. Toxicité de la <i>Beauvericine</i>	27
IV. Méthodes de détection des mycotoxines	28

## **Chapitre II : Matériels et méthodes**

I. Stratégie et objectif de l'étude	33
II. Méthodologie de l'enquête	33
II.1. La collecte et le traitement des données	35
III. Echantillonnage	35
IV. Etude mycologique	36
IV.1. Méthode d'ensemencement direct	36
IV.2. Méthode d'ensemencement indirect (par dilution)	36
IV.3. Identification des isolats	37
IV.3.1. Identification morphologiques	37
IV.3.2. Purification et la conservation des isolats	37
IV.3.3. La quantification et le pourcentage des isolats	38
V. Lyophilisation des œufs	40
VI. Extraction des mycotoxines et analyse de l'aliment et des œufs par UHPLC-MS/MS	41
VI.1. Préparation des échantillons de l'aliment	41
VI.1.1. Procédure d'extraction des mycotoxines dans l'aliment	42
VI.2. Préparation des échantillons des œufs	43
VI.2.1. Procédure d'extraction des mycotoxines dans les œufs	43
VI.3. Instrumentation et équipements	46
VI.4. Validation des méthodes d'analyses	46
VII. Préparation et analyse de l'aliment par le Kit ELISA	47
VII.1. Préparation des échantillons	47

VII.2. Analyse des échantillons	48
<b>Chapitre III : Résultats et discussion</b>	
I. Résultats de l'enquête	51
I.1. Identification des exploitations	51
I.1.1. Capacité des exploitations (Bâtiments pleins)	51
I.1.2. Mode d'élevage	51
I.2. Caractéristiques du cheptel	52
I.2.1. La provenance des poules	52
I.2.2. La souche exploitée	53
I.3. Conduite sanitaire	54
I.4. Alimentation des poules	55
I.4.1. Origine de l'aliment	55
I.4.1.1. Aliment acheté	56
I.4.1.2. Aliment produit au niveau de l'exploitation	56
I.4.2. Mode de stockage	58
I.4.3. Temps de stockage	59
I.4.4. Mode de distribution de l'aliment	59
I.5. Conduite des éleveurs envers certains paramètres liés à l'aliment	60
II. Etude mycologique	63
III. Validation des méthodes d'extraction des mycotoxines	65
III.1. Validation de l'extraction de l'aliment	65
III.1.1. Récupération	65
III.1.2. Effet de matrice	65
III.1.3. Linéarité	65
III.1.4. LOD et LOQ	66
III.2. Validation de l'extraction des œufs	67
IV. Résultats des analyses par UHPLC-MS/MS	67
V. Résultats des analyses par le Kit Elisa	75
<b>Conclusion</b>	81
<b>Références bibliographiques</b>	83

## Liste des figures

<b>Numéro</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
Figure 1	Aspect macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus spp.</i>	09
Figure 2	Aspect macroscopique et microscopique du genre <i>Penicellium spp.</i>	12
Figure 3	Aspect macroscopique et microscopique du <i>Fusarium oxysporum.</i>	13
Figure 4	Aspect macroscopique et microscopique du genre <i>Claviceps spp.</i>	13
Figure 5	Structure chimique de l' <i>Ochratoxine A.</i>	22
Figure 6	Structure chimique des <i>Enniatines</i> (ENN A, ENN A1, ENN B et ENN B1).	24
Figure 7	Structure chimique de la <i>Beauvericine.</i>	26
Figure 8	Carte montrant les wilayas concernées par l'étude.	34
Figure 9	La purification des colonies.	38
Figure 10	Schéma récapitulatif de l'étude mycologique.	39
Figure 11	Schéma récapitulatif du processus de lyophilisation.	40
Figure 12	La lyophilisation des échantillons fortifiés.	41
Figure 13	Procédure de fabrication d'un échantillon témoin d'aliment.	42
Figure 14	Récapitulatif des procédures d'extraction.	45
Figure 15	Chromatogramme d'une solution standard contenant un mélange des cinq mycotoxines émergentes (ENN A, ENN A1, ENN B, ENN B1 et BEA) à une concentration de 16 µg/L.	47
Figure 16	Récapitulatif des principales étapes de l'analyse d'Ochratoxine A.	49
Figure 17	Nombre de bâtiments par exploitation.	51
Figure 18	Le mode d'élevage.	52
Figure 19	La provenance des poules.	53
Figure 20	Les souches exploitées dans la zone d'étude.	54
Figure 21	Le plan vaccinal.	54
Figure 22	Les analyses périodiques.	55
Figure 23	L'origine de l'aliment.	55
Figure 24	Les quantités d'aliment acheté.	56
Figure 25	La présence de capteurs de mycotoxines.	56
Figure 26	La présence de capteurs dans l'aliment fabriqué.	58
Figure 27	Le mode de stockage de l'aliment.	58
Figure 28	Le temps de stockage de l'aliment.	59
Figure 29	Le mode de distribution de l'aliment.	60
Figure 30	Vérification de l'humidité de l'aliment au moment du stockage.	61
Figure 31	Vérification des insectes dans l'aliment au moment du stockage.	61

Figure 32	Vérification des moisissures dans l'aliment au moment du stockage.	62
Figure 33	L'occurrence des genres fongiques dans les échantillons d'aliment étudiés.	63
Figure 34	Les courbes de linéarité de la méthode d'extraction des mycotoxines.	66
Figure 35	Les courbes obtenues des analyses par UHPLC-MS/MS.	72
Figure 36	Taux de contamination d'OTA (ng. g <sup>-1</sup> ) dans les échantillons des wilayas étudiées.	77

## Liste des tableaux

<b>Numéro</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
Tableau 1	Les facteurs extrinsèques influençant la production des mycotoxines	16
Tableau 2	Les méthodes de détections des mycotoxines les plus utilisées	29
Tableau 3	Les aspects macroscopiques et microscopiques des genres présents dans les échantillons d'aliments	64
Tableau 4	Les résultats de la récupération de la méthode utilisée	65
Tableau 5	Les résultats de l'effet de matrice de la méthode utilisée	65
Tableau 6	Les résultats des limites de détection et de quantification de la méthode utilisée	67
Tableau 7	Les résultats obtenus par la méthode utilisée	67
Tableau 8	Les résultats de l'analyse par UHPLC-MS/MS	68
Tableau 9	Fréquence de contamination dans les échantillons d'aliment	76

## Abréviations

°C : Degré celsius

µg : Microgramme

*A.* : *Aspergillus*

ACN : Acétronétrile

AF : *Aflatoxine*

AFB1 : *Aflatoxine B1*

AFM1: *Aflatoxine milk1*

BEA : *La Beauvericine*

*C.* : *Claviceps*

CIRC : Classement international de la recherche sur le cancer

CMV : Complément vitaminé et minéral

CRAPC : Centre de recherche et d'analyses physico-chimiques

DON : Le *déoxynivalénol*

EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments

ELISA : Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

EM : Effet de matrice

ENN : *Les Enniatines*

*F.* : *Fusarium*

FLD: Fluorescence

H2O : Eau

HPLC: High performance liquid chromatography

kg : Kilogramme

l : Litre

LC : Liquid chromatography

LM : Limites maximales

LOD : Limite de détection

LOQ : Limite de quantification

MeOH : Méthanol

mg : Miligramme

MgSO4 : Sulfate de magnésium

MON : *La moniliformine*

MS: Mass spectrometry

**NaCl** : Chlorure de sodium

**ng** : Nanogramme

**NIV** : *Nivalénol*

**OTA** : *Ochratoxine A*

**P** : *Penicillium*

**PDA** : Potato dextrose agar

**pH** : Potentiel d'hydrogène

**Phe** : Phénylalanine

**pKa** : Constante de dissociation acide

**RE** : Recupération (recovery)

**Rpm** : Tours par minute

**STD** : Ecart type

**T** : *Trichothécènes*

**UE** : Union européenne

**UHPLC-MS/MS**: Ultra-high-performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry

**UV** : Ultra-violet

**V** : Volume

**ZEN** : La zéaralénone

# Introduction

### Introduction

L'industrie avicole algérienne a connu une évolution marquée depuis l'indépendance, passant d'entreprises publiques à une expansion fulgurante du secteur privé. Bien que productive, avec environ 4,8 milliards d'œufs et 340 000 tonnes de viande blanche par an, cette industrie fait face à des défis majeurs liés à la dépendance aux aliments importés pour la volaille. La région Est de l'Algérie a particulièrement enregistré une croissance significative de la production d'œufs, devenant une zone importante à considérer (Alloui and Bennoune, 2013).

Cependant, un des risques majeurs qui pèse sur cette industrie avicole en plein essor est la contamination par les champignons, bien qu'ayant des effets bénéfiques (Khalifa et al., 2022), ces derniers peuvent également avoir des impacts néfastes sur les cultures en termes de rendement et de qualité des grains (Decler et al., 2016; Ayofemi Olalekan Adeyeye, 2020).

Certaines espèces fongiques sont responsables de la production de métabolites secondaires appelés mycotoxines (Balendres et al., 2019). Ces dernières peuvent avoir des effets néfastes ou secondaires lorsqu'elles sont ingérées par les humains ou les animaux, entrant ainsi dans la chaîne alimentaire directement via les aliments contaminés ou indirectement par les produits animaux issus d'animaux nourris avec des céréales infectées (Cohen and Lapointe, 1986; Naom, 2007; Shareef, 2010).

La volaille est particulièrement sensible à certaines mycotoxines comme l'*Ochratoxine A* (OTA), produite par *Aspergillus spp.* et *Penicillium spp.* (López Grío et al., 2010). L'intestin des volailles devient alors un site critique d'accumulation de l'OTA (Ganesan et al., 2021), menaçant leur santé et leurs performances (Biró et al., 2002; Aravind et al., 2003). Sa présence dans leur alimentation soulève des inquiétudes non seulement pour la productivité animale, mais aussi pour l'exposition humaine indirecte via la consommation d'œufs, de viande et d'abats potentiellement contaminés par cette mycotoxine aux effets toxicologiques néfastes (Girish and Smith, 2008; Tatfo Keutchatang et al., 2022).

Outre l'OTA, d'autres mycotoxines émergentes comme les *Enniatines* (ENN) et la *beauvéricine* (BEA) produites par *Fusarium spp.* (Serrano et al., 2013; Juan et al., 2020), suscitent un intérêt croissant en raison de leur large éventail d'actions biologiques (Sabater-Vilar et al., 2007). Ces mycotoxines ont d'ailleurs été retrouvées dans des œufs de poules pondeuses, avec une accumulation dans le jaune et divers tissus de dindes et poulets de chair, soulignant les risques de contamination (Gautier et al., 2020).

Face à ces menaces, des limites maximales ont été fixées pour certaines mycotoxines dans l'alimentation animale par des organismes comme l'Union européenne (Van Egmond and

## Introduction

---

Jonker, 2004; Regulation, 2006), pour cinq mycotoxines, dont *l'aflatoxine B1*, le *déoxynivalénol*, la *zéaralénone*, les *fumonisines B1+B2* et *l'Ochratoxine A*, dans le cadre de l'alimentation animale (Streit et al., 2012; Kebede et al., 2019; Luo et al., 2021).

Cependant, les niveaux de BEA et d'ENN dans les produits destinés à l'alimentation humaine et animale dans le monde n'ont pas de limites maximales réglementaires établies (Leatherhead Food Research Association, 2010; Eskola et al., 2020). Initialement, les seconds métabolites de *Fusarium* tels que les ENN, le BEA et d'autres composés étaient regroupés sous le terme « mycotoxines émergentes » (Jestoi, 2008). Plus tard, le terme « émergentes » désigne les mycotoxines qui ne sont pas soumises à une réglementation (Gruber-Dorninger et al., 2017).

Une multitude de travaux en Algérie ont étudié de manière approfondie la détection des mycotoxines dans diverses matrices (Redouane-Salah et al., 2015; Ait Mimoune et al., 2018; Mimoune et al., 2021; Jedidi et al., 2023; Redouane-Salah et al., 2023, Laouni et al., 2024), cependant, les efforts de recherche examinant la contamination par les mycotoxines dans les aliments pour animaux se sont principalement concentrés sur des toxines réglementées comme *les aflatoxines* (Tantaoui-Elaraki et al., 2018), soulignant systématiquement la prévalence des *aflatoxines* comme principaux contaminants alimentaires dans la région. Par ailleurs, les recherches ont été limitées sur les mycotoxines émergentes, notamment les *Enniatines* (ENN) et la *beauvéricine* (BEA), malgré leurs risques connus (Benkerroum and Tantaoui Elaraki, 2001; Sifou et al., 2011).

C'est dans ce contexte préoccupant que s'inscrit la présente étude, visant non seulement à déterminer la prévalence de la contamination par *l'Ochratoxine A* (OTA) dans les échantillons d'aliments pour poules pondeuses de la région de l'Est algérien à l'aide de tests immuno-enzymatiques ELISA très sensibles, mais aussi à détecter la présence de mycotoxines émergentes comme les *Enniatines* et la *beauvéricine* dans ces aliments et dans les œufs, en utilisant la méthode ultra-sensible de chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (UHPLC-MS/MS). Cette région étant une zone clé de production d'œufs où les consommateurs sont fortement exposés.

Cette recherche fournira des données vitales pour évaluer de manière exhaustive les niveaux d'exposition des volailles à l'OTA et aux autres mycotoxines dangereuses. Une telle évaluation est cruciale pour développer des stratégies anti-mycotoxines efficaces garantissant la sécurité des produits avicoles consommés. Avec le manque de données de surveillance généralisées en Algérie malgré la recherche croissante, ce travail comblera une lacune majeure en établissant des niveaux de référence de contamination, guidant ainsi la mise en place de programmes de surveillance et de mesures d'atténuation pour protéger la santé publique.



Chapitre I :

Revue bibliographique

# I. Généralités sur les moisissures et les mycotoxines

## I.1. Les moisissures

Le terme « moisissure », au sens large, inclut les champignons filamenteux (mucorales, ascomycètes et deutéromycètes) et les levures appartenant aux ascomycètes et aux basidiomycètes (*Saccharomyces*, *Cryptococcus*, *Pseudozyma*), avec un grand nombre d'espèces qui varie de 60 000 à 100 000. La plupart d'entre elles proviennent des végétaux qu'elles colonisent et sont transportées par les vents, elles sont pratiquement indétectables pour la plupart, mais elles peuvent être visibles lorsque leur développement est important (Reboux et al., 2011).

Les moisissures sont des organismes eucaryotes, thallophytes caractérisés par la présence d'un appareil végétatif en forme de thalle constitué par des filaments mycéliens caractérisés par une croissance apicale, dans toutes les directions à la même vitesse (Tabuc, 2007).

Certaines moisissures intéressent l'homme en lui présentant des intérêts considérables dans plusieurs domaines, comme dans l'affinage des fromages (Roquefort, fromage persillé...) ou l'amélioration des qualités organoleptiques d'autres produits alimentaires comme les saucisses, ainsi que dans le domaine pharmaceutique (la production d'antibiotiques comme les *pénicillines* et les *céphalosporines* ou autres) (Botton et al., 1990), et encore dans certains processus biotechnologiques pour la synthèse de plusieurs acides, parmi eux l'acide citrique et l'acide gluconique ainsi que pour la production de quelques enzymes comme la protéase (Perry, 2004). D'après Strohl (2023), près de 40% des enzymes produites industriellement et environ 22% des antibiotiques sont produites à base d'espèces fongiques.

Les moisissures sont responsables d'impacts nocifs pour la santé humaine par des pathologies allergiques, ou de quelques affections respiratoires et peut-être de cancérisation, ainsi que pour la santé animale suite à la détérioration des aliments consommés et la modification de leur aspects organoleptique, ou par la réduction qualitative de leur valeur alimentaire et/ou quantitative par la baisse de récolte et du rendement favorisant ainsi une baisse économique due au rejet des denrées contaminées (Frisvad et al., 2006), cet impact est lié à la libération de métabolites toxiques appelés mycotoxines (Russell et al., 1991; Reboux et al., 2011).

Les moisissures sont peu exigeantes sur les conditions environnementales du substrat, et peuvent contaminer plusieurs milieux comme : les produits d'origine animale (viande-lait-œufs...), céréales, tissus, matières organiques en décomposition ; là où on trouve une source de carbone et d'azote accessibles (Streit et al., 2012).

### I.2. Les champignons mycotoxinogènes

#### I.2.1. Généralités

Les moisissures couramment appelés « champignons », représentent des agglomérats de filaments mycéliens et d'organes fructifères capables de coloniser divers substrats (Chabasse et al., 2002). Définies comme étant des organismes eucaryotes, sporogènes, non chlorophylliens. Leur classification est basée sur leurs structures de reproduction qui peuvent se distinguer par voie sexuée (champignon téléomorphe ou parfait), et/ou asexuée (champignon anamorphe ou imparfait), notant que ces deux formes de reproduction peuvent coexister chez un même champignon dit holomorphe (Québec et al., 2002).

Ils jouent un rôle important dans l'écologie terrestre par leur caractère ubiquiste et participent largement à la biodégradation des matières organiques (Alexopoulos and Mims, 1979).

Leur développement se fait par croissance apicale et élongation des filaments à partir de leurs extrémités dans toutes les directions et de façon identique. Le mode de croissance se traduit par la mise en place de colonies circulaires (thalles) caractéristiques des champignons sur milieu gélosé. Leur appareil végétatif (thalle) est constitué de filaments ramifiés (cloisonnés ou non) dont l'organisation est coenocytique. A l'intérieur de la structure filamenteuse, entourée d'une paroi rigide, se trouve une masse cytoplasmique multi-nucléée mobile. Chez de nombreux champignons, il existe des cloisons transversales régulières dans les hyphes, mais ces cloisons sont percées d'un pore central permettant la libre circulation du cytoplasme et des noyaux, leur attribuant le caractère d'avoir un mycélium « cloisonné » (Bocquet, 1993).

Un large nombre de produits alimentaires peut être contaminé par les champignons. Les principaux substrats sur lesquels ils prolifèrent sont les cultures oléagineuses, protéagineuses et céréalières mais on les retrouve aussi dans les fourrages, le café, le cacao, le riz, les fruits, le maïs, ...etc (Ruppel et al., 2004).

Plusieurs moisissures notamment les genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*, sont connues pour être des contaminants des produits agricoles et/ou pour leur capacité à produire des métabolites secondaires toxiques (Cahagnier and Richard-Molard, 1998).

Les champignons se propagent sur les différents substrats, par l'intermédiaire de spores identifiées comme des corpuscules de 2 à 250 µm de diamètre, ces spores sont disséminées principalement par l'air ambiant. Lorsqu'elles se déposent sur un substrat organique, elles germent et redonnent un mycélium si les conditions d'humidité et de température y sont favorables. Elles peuvent pénétrer par deux voies différentes : soit par voie chimique (production d'enzymes, de toxines) ou par voie mécanique en exerçant une pression sur le

substrat (Chabasse et al., 2002). Les spores peuvent également élaborer des substances chimiques susceptibles de demeurer à l'intérieur des spores, ou d'être libérées dans les matériaux qu'elles colonisent ou encore d'être libérées dans l'air ambiant (Russell et al., 1991).

### **I.2.2. Identification des champignons**

L'identification des champignons susceptibles de coloniser les aliments est basée sur plusieurs critères :

- Les critères morphologiques (macroscopique ou microscopique),
- Biochimiques ou moléculaires,
- Ecologiques (Guarro et al., 1999).

En pratique, l'observation des caractères cultureux et morphologiques de l'espèce, est devenue la pratique la plus utilisée. Par ailleurs, Ces méthodes d'identification peuvent être complétées par une analyse moléculaire (Chabasse et al., 2002).

#### **I.2.2.1. Caractères morphologiques**

L'observation des caractères cultureux et morphologiques, était pendant longtemps l'outil principal et exclusif pour identifier une espèce fongique, en pratique, la délimitation des espèces s'appuie sur la recherche des traits caractéristiques de la morphologie et des cultures d'isolats sur milieu approprié (Azzoune, 2011).

Ces caractères sont constitués des paramètres macroscopiques (aspect des colonies, de leur revers) et microscopique (aspect du mycélium, des spores, des phialides, des conidiophores,...) (Cahagnier and Richard-Molard, 1998).

#### **I.2.2.2. Caractères biochimiques et moléculaires**

Depuis quelques années, le développement des méthodes analytiques et moléculaires a permis aux scientifiques de réaliser une classification des microorganismes selon des caractéristiques biochimiques, qui ne nécessitent pas obligatoirement une étude morphologique (Verscheure et al., 2002).

En se basant sur des méthodes chromatographiques et spectroscopiques on peut mener des analyses aussi bien quantitatives que qualitatives pour élucider les structures des métabolites ou des composés de la membrane cellulaire. Il s'agit principalement des polysaccharides, des lipides insaponifiables, des acides gras et des métabolites secondaires volatiles et non volatiles (Lamrani, 2009)

La paroi cellulaire des champignons est constituée de 80 à 90 % de polysaccharides, leur étude est critique dû à la nécessité de la connaissance des monomères et de leur séquence, de la

position des liaisons et de la configuration anomérique, alors que les lipides insaponifiables de la membrane, appartiennent à la famille des ubiquinones, stéroïdes et caroténoïdes. Par ailleurs, le profil en acides gras peut être similaire, du point de vue composition, chez de nombreuses espèces d'un genre donné. Tout de même, ces espèces peuvent être différenciées grâce à la concentration relative de chaque acide gras (Lamrani, 2009), cette approche a permis à Lopez da Silva et al. (1998), de différencier des espèces de *Penicillium* (Bornay-Llinares et al., 1998). Certains auteurs ont utilisé des métabolites secondaires volatils pour l'identification des champignons filamenteux pour décrire quelques espèces appartenant aux genres *Aspergillus* et *Fusarium*, malgré que les études sur cette méthode sont controversées (Sunesson et al., 1995; Wilkins and Larsen, 1995; Frisvad et al., 2006), et au genre *Penicillium* (Börjesson et al., 1990; Larsen and Frisvad, 1995).

D'après des études récentes, des méthodes d'identification reposant sur l'étude des acides nucléiques (ADN et ARN), avec des méthodes plus intéressantes basées sur l'amplification par PCR (Polymerase chain reaction), de certaines régions spécifiques comme le gène codant pour la région ITS1-5,8s- ITS2 et IGS (Hinrikson et al., 2005; Azzoune, 2011).

### **I.2.3. Etude morphologique et moléculaire de quelques genres de moisissures**

#### **I.2.3.1. *Aspergillus***

##### a) Classification taxonomique

Le genre *Aspergillus* appartient au règne des fungi et classe des *Ascomycetes*, de l'ordre des *Euraticales* et la famille des *Trichocomaceae*, et du groupe des *Hyphomycetes* (Perelman and Kuttin, 1992)

##### b) Critères morphologiques du genre

Thalle à mycélium cloisonné et nombreux conidiophores, non ramifiés, terminés en vésicules (tête conidienne unisériée) ou portés sur des métules ou stérigmates (tête conidienne bisériée). Conidies sèches en chaîne divergente ou associées en colonnes compactes, unicellulaires, globuleuses, sub-globuleuses ou elliptiques, lisses ou ornementées, hyalines ou pigmentées en jaune, brun, noir ou vert, unicellulaires, globuleuses, sub-globuleuses ou elliptiques, lisses ou ornementées, hyalines ou pigmentées en jaune, Des cellules d'épaisseur de paroi et des sclérotés sont parfois observées (Botton et al., 1990).

##### c) Identification du genre

###### c.1. Identification macroscopique

Les *Aspergillus* sont caractérisés par une croissance rapide, après 48 heures d'incubation, des plaques formées de courts filaments aériens sont visibles, et après 96 heures d'incubation, les colonies prennent leur coloration caractéristique brune, verte, jaune ou noire selon les espèces (Azzoune, 2011).

Généralement les *Aspergillus* poussant à une température de 22°-30°, il existe par ailleurs, des espèces thermotolérantes comme l'*A. fumigatus* qui se développent à 37° allant jusqu'à 57° (Morin, 1994).

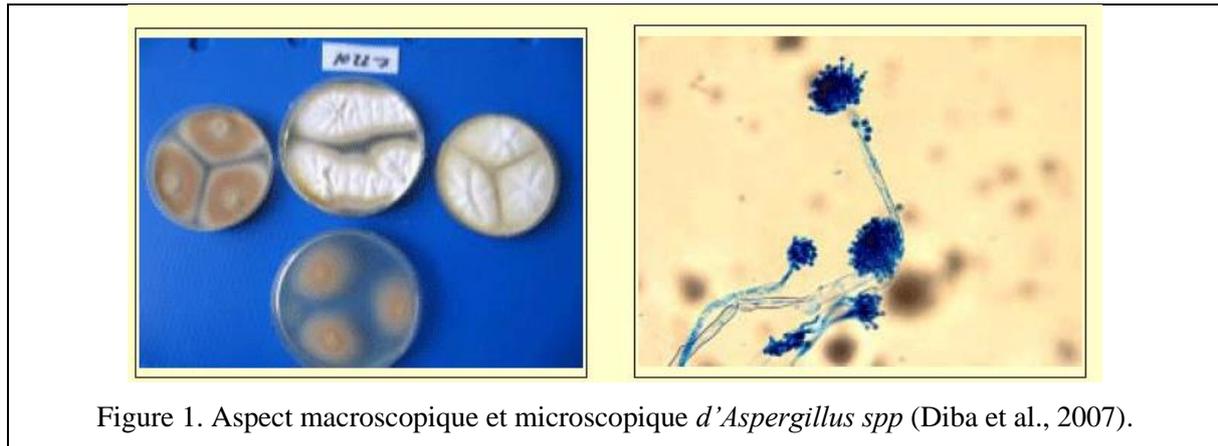
L'aspect des colonies d'*Aspergillus* peut être granuleux ou poudreux, tandis que leur couleur peut permettre une identification rapide de certaines espèces : vert-jaune pour *A. flavus*, gris-vert pour *A. fumigatus*, brun canelle pour *A. terreii*, jaune à ocre pour *A. circumdati*, noire pour *A. nigrit* blanche pour *A. candidi* ; le revers de la colonie au début est incolore ou jaune et avec l'âge il peut brunir ou rougir (Wicklow and Shotwell, 1983).

### c.2. Identification microscopique

Les *Aspergillus* sont caractérisés par une structure composée d'un appareil végétatif nommé thalle, qui est formé de filaments mycéliens hyalins de diamètre fin et régulier, septés et ramifiés.

Les filaments végétatifs donnent naissance à des filaments non cloisonnés, appelés conidiophores terminant par une vésicule de différentes formes (rondes, oblongues, échinulées ou lisses, pigmentées ou hyalines ...) sur lesquelles se disposent les phialides (cellules conidiogènes). Ces dernières peuvent être directement insérées sur la vésicule (têtes unisériées), ou portées par des petites structures qui sont-elles mêmes insérées sur la vésicule (têtes bisériées) prenant le nom de métules ou stérigmates (Badillet et al., 1987).

Les conidies sèches qui se disposent en chaîne divergentes ou associées en colonnes compactes, ont la caractéristique d'être toujours unicellulaire, globuleuse, sub-globuleuses, elliptiques, lisses ou ornementées, hyalines ou pigmentées (en jaune, vert, brun, ou noir). La tête aspergillaire qui caractérise le genre *Aspergillus* est donc constituée de l'ensemble de vésicule, métules, phialides, et conidies (Azzoune, 2011). L'aspect macroscopique et microscopique de ce genre sont démontrés dans la figure 1.



### d) Toxinogénèse

Quelques espèces du genre *Aspergillus* produisent des métabolites secondaires nommées mycotoxines parmi les plus importantes : les *aflatoxines* (*A. flavus*, *A. parasiticus*) et l'*Ochratoxine* (*A. ochraceus*), l'*A. fumigatus* produit aussi des substances antibiotiques plus ou moins toxiques, connues comme des polycétones (*fumigatine*, *spinulosine*), des terpenoïdes (acide helvolique, fumagilline), une épithiadiioxopipérazine, la gliotoxine et des alcaloïdes neurotoxiques (fumigaclavines, fumitrémorgines). Parmi ces mycotoxines, la *gliotoxine* est la seule qui a le pouvoir de jouer un rôle dans le phénomène infectieux (Ault and Schott, 1994).

### e) Classification des espèces d'*Aspergillus* e.1. *Aspergillus* section *flavi*

Les 22 espèces appartenant à ce groupe peuvent occuper plusieurs milieux écologiques, elles peuvent être présentes dans la nature sous deux formes, comme des parasites des plantes, des animaux, et des insectes, ou comme saprophytes dans le sol. Elles sont toutefois, capables de se développer dans des températures qui se varient entre 10° et 48° avec un optimum de 33° (Amare and Keller, 2014), et dans des milieux présentant une humidité située entre 0,78 et 0,80 ; et un Ph variant entre 2,1 et 11,2, ce qui leur confère la possibilité de se retrouver dans des régions chaudes comme les régions tropicales et sub- tropicales (Ayerst, 1969).

Parmi les espèces les plus importantes il existe 9 espèces aflatoxinogènes parmi lesquelles : *A. nomius*, *A. flavus*, *A. parasiticus* qui sont le plus souvent responsables de l'élaboration de quantités importantes d'*aflatoxines* dans les aliments, et d'autres espèces utilisées dans l'industrie alimentaires comme *A. oryzae* et *A. sojae* (Baquião et al., 2013).

L'*A. flavus* produit essentiellement l'*aflatoxine* B1 et B2, alors que l'*A. parasiticus* produit les 4 *aflatoxines* B1, B2, G1, et G2. Concernant l'*A. nomius*, c'est une souche très rare proche d'*A. flavus*, capable de produire les *aflatoxines* B et G (Kurtzman et al., 1987).

Les espèces appartenant à cette section sont étroitement liées et difficile à être distinguées en raison de la grande similarité entre elles et l'instabilité des caractères morphologiques qui les caractérisent. C'est dans ce but que l'identification se base parfois sur la nature des mycotoxines produites (Giorni et al., 2007).

### e.2. *Aspergillus section Nigri*

Les *Aspergillus section Nigri* sont des champignons filamenteux largement distribués dans le monde qui avec leur capacité de se développer dans une grande variété de substrats, formant un groupe de champignons qui joue un rôle important en bio-industrie (Ait Mimoune et al., 2018), plusieurs souches de cette section, sont utilisées dans la fermentation pour la production d'acides et d'enzymes d'hydrolyse, parmi elles *A.niger* qui sont utilisés pour la production d'enzymes extracellulaires (amylases et lipases) et d'acides organiques (acides citrique et gluconique), qui sont utilisés comme additifs alimentaires (Diba et al., 2007).

Bien que nombreuses espèces provoquent la détérioration des aliments, certaines d'entre elles sont utilisées dans l'industrie agro-alimentaire pour produire des acides organiques, tels que les acides citrique et gluconique, ainsi que des enzymes hydrolytiques comme les lipases et les amylases (Silva et al., 2011). Cette section est aussi très importante vu l'ochratoxigénicité attribuée à certains de ses représentants : *A. niger* et *A. carbonarius* sont considérés comme des contaminants majeurs de certaines denrées tropicales et subtropicales tels que les raisins et dérivés (Martínez-Culebras et al., 2009).

### e.3. *Aspergillus section Nidulantes*

La section *Aspergillus Nidulantes* comprend des espèces aux caractères morphologiques spécifiques, se manifestant par des conidiophores bisériés à stipes pigmentés de brun, leur présence engendre la production d'ascomés incrustés dans des masses de cellules de Hülle avec des ascospores souvent brun rougeâtre. La majorité des espèces de cette section ont un état sexuel, qui ont été nommés *Emericella* dans le système de nomenclature à double nom (Chen et al., 2016).

Ces champignons xérophiles sont souvent présents dans les milieux intérieurs, sols, ou sur les graines au moment du stockage (Peterson et al., 2008).

Recemment, de nombreuses espèces de cette section ont été signalées du fait de leur capacité de produire des mycotoxines cancérigènes stérigmatocystine. Parmi celles, les plus préoccupantes sont les *aflatoxines*, la *stérigmatocystine*, l'*émestrine*, les *fumitrimorgines*, les *asteltoxines* et la *paxilline*, tandis que d'autres extrolites sont des médicaments utiles ou des candidats médicaments tels que les *échinocandines*, les *mulundocandines*, les *calbistrines*, les

*varitriols*, les *varécolines*. L'*aflatoxine B1* est produite par quatre espèces : *A. stellatus*, *A. miraensis*, *A. olivicola* et *A. venezuelensis* (Chen et al., 2016; Sklenář et al., 2020).

### e.4. *Aspergillus section Circumdati*

La section *Aspergillus circumdati* ou le groupe *Aspergillus ochraceus* comprend des espèces à stipes avec des parois rugueuses, à têtes conidiennes bisériées, et des conidies jaunes à ocres ainsi que des sclérotés qui ne noircissent pas, qui peuvent se développer sur la plupart des milieux de culture classiques. Plusieurs espèces sont capables de produire des mycotoxines, notamment des *Ochratoxines*, des *acides pénicilliques* et des *xanthomégénines*. Certaines espèces produisent également des candidats-médicaments tels que les *notoamides* (Visagie et al., 2014).

L'exception à cela est *A. robustus*, qui produit des sclérotés noirs, des conidiophores phototropes et aucun des extrolites énumérés ci-dessus (Frisvad et al., 2004).

Cette section qui comprends 27 espèces, parmi lesquelles 20 espèces sont particulièrement connues par la production de l'*Ochratoxine A* (Gil-Serna et al., 2011).

### I.2.3.2. *Penicillium*

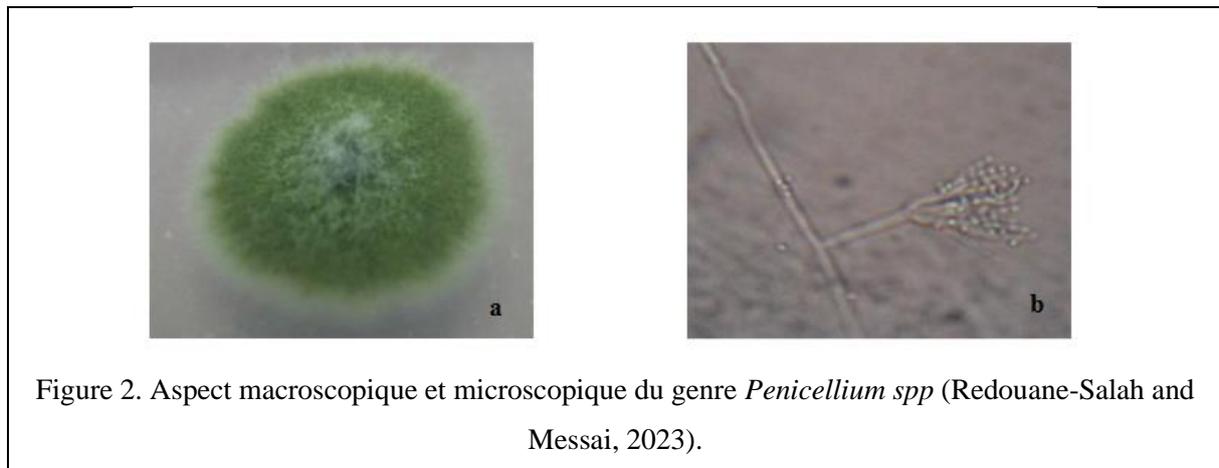
Le nom *Penicillium* est dérivé de *penicillus*, qui signifie « petit pinceau » et a été introduit par Link en 1809 (Houbraken et al., 2014). La classification de *Penicillium* a fait l'objet de nombreuses monographies, et ces monographies continuent de servir de base à de nombreuses études en cours sur *Penicillium* (Pitt and Hocking, 2009; Houbraken et al., 2014).

Le genre *Penicillium* est l'un des champignons les plus répandus dans le monde dans une gamme variée d'habitats, du sol à la végétation, à l'air, aux environnements intérieurs et à divers produits alimentaires, tels que les fromages (le camembert ou le roquefort), et les saucisses fermentées. Ses espèces sont considérées comme des saprophytes omniprésentes et opportunistes, généralement ce sont strictement aérobies, peu exigeantes sur le plan nutritionnel et capables de se développer dans une large gamme d'environnements physico-chimiques, mais certaines d'entre elles sont hautement spécialisées, comme les agents pathogènes des fruits (*P. expansum*, sur les pommes, *P. digitatum* et *P. italicum* sur les agrumes), sur les aliments à faible teneur en eau (*P. brevicompactum*, *P. chrysogenum*, *P. implicatum*) et à faible tension en oxygène (*P. roqueforti*) (El-Banna et al., 1987).

Le groupe *penicillium* consiste essentiellement en un groupe bien défini de phialides ou de cellules similaires portant de petites conidies unicellulaires sèches en chaînes. Les phialides sont soit attachées à un stipe directement, soit par une ou plusieurs étapes de ramification. Les branches ont généralement un diamètre similaire aux stipes (Pitt and Hocking, 2009). Ce groupe

se caractérise aussi par une croissance rapide, produisant un grand nombre de spores exogènes à parois sèches qui sont facilement disséminées par l'air. La plupart des espèces de *Penicillium* d'origine alimentaire sont psychrotolérantes, certaines sont à peine capables de se développer à 37 °C, mais elles sont principalement mésophiles avec une température optimale autour de 25 °C (Perrone and Susca, 2017), l'aspect macroscopique et microscopique du genre sont démontrés par la figure 2.

Plusieurs études ont montré que des mycotoxines sont produites par ce genre, la principale espèce productrice d'*Ochratoxine A* est *Penicillium verrucosum*, qui se trouve fréquemment dans les climats tempérés frais (Frisvad et al., 2006).



### 1.2.3.3. *Fusarium*

Le genre *Fusarium* appartient au règne des fungi, Classe des *Sordariomycetes*, Ordre des *hypocreales*, et la famille des *Nectriaceae*, il comprend 300 espèces qui se répondent facilement (Summerell et al., 2011).

Parmi l'une des maladies fongiques les plus importantes affectant les principales cultures céréalières, notamment le blé, l'orge et le maïs dans le monde, la fusariose qui est causée par des *Fusarium spp*. Phytopathogènes, non limités aux groupes d'espèces rouges *F. avenaceum*, *F. culmorum* et *F. graminearum*. Ces espèces de *Fusarium* produisent des mycotoxines, telles que le *déoxynivalénol (DON)*, *l'enniatine (ENN)*, *la moniliformine (MON)* et *la zéaralénone (ZEN)*. Le DON et ses dérivés *trichothécènes* de type B (*3-ADON/3-acétyl-déoxynivalénol* et *15-ADON/15-acétyl-déoxynivalénol*) sont principalement produits par *F. graminearum* et *F. culmorum*. Ils agissent comme des inhibiteurs de la synthèse des protéines cellulaires et posent un risque important pour la santé des plantes, des humains et des animaux (Russell et al., 1991; Kim and Vujanovic, 2016) .

*Fusarium spp.* Sont caractérisés par des hyphes bien développés, cloisonnés, non pigmentés avec des bifurcations à angle aigu formant des macroconidies typiques, appelées conidies sporodochiales, variant en forme, en taille et en nombre d'une espèce à l'autre (Hof, 2020), l'aspect macroscopique et microscopique du genre sont démontrés par la figure 3.

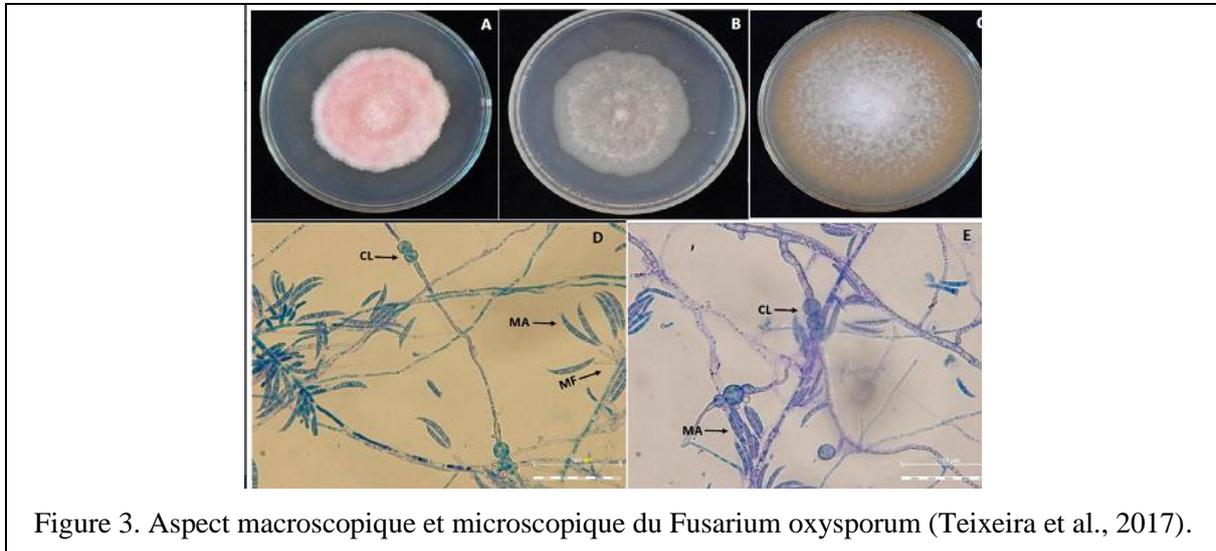


Figure 3. Aspect macroscopique et microscopique du *Fusarium oxysporum* (Teixeira et al., 2017).

### I.2.3.3. *Claviceps*

Les champignons de l'ergot du genre *Claviceps* sont des ascomycètes phytopathogènes saprophytes capables de parasiter plus de 400 espèces de plantes monocotylédones, affectant notamment un grand nombre de graminées et de céréales communes (Negård et al., 2015). Ce genre comprend plus de 60 espèces mais la plus reconnues comme responsable de mycotoxicoses est le *C. purpurea* (Liu et al., 2022).

Les infections de *Claviceps* sont caractérisées par la formation de structures récalcitrantes de couleur violet appelées sclérotés qui se forment lorsque les hyphes fongiques envahissent les ovules non fécondés des plantes hôtes via les stigmates et les tubes polliniques pendant l'anthèse, remplaçant ainsi les graines hôtes en développement par des masses compactes de mycélium fongique dures (Miedaner and Geiger, 2015), l'aspect macroscopique et microscopique du genre sont démontrés par la figure 4.

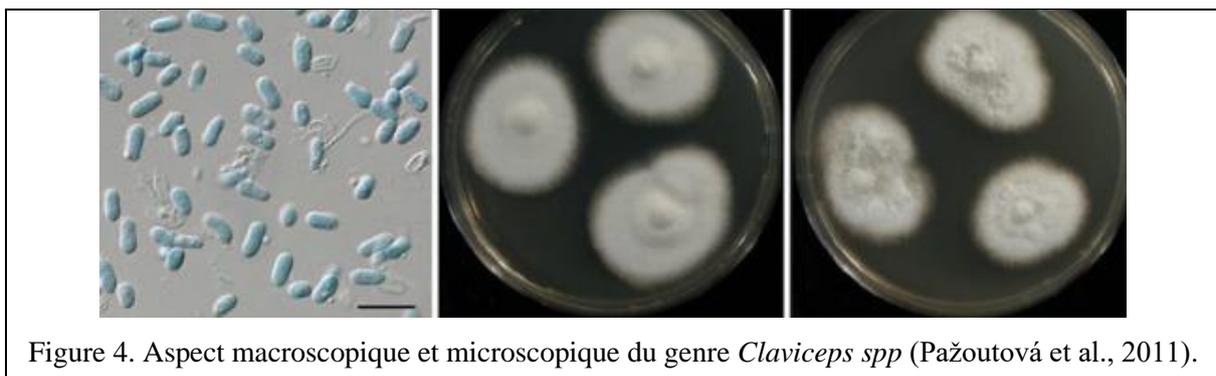


Figure 4. Aspect macroscopique et microscopique du genre *Claviceps spp* (Pažoutová et al., 2011).

L'infection par l'ergot des cultures céréalières (L'avoine, le blé, l'orge et le sorgho mais le seigle reste la culture la plus sensible) (Abrunhosa et al., 2016), a un impact direct sur la qualité et le rendement des grains, cela est considérée comme une importance secondaire par rapport aux effets toxiques de la consommation accidentelle par les humains ou les animaux, du fait de la contenance d'une grande variété d'alcaloïdes dans les sclérotés de l'ergot qui constituent 0,5 à 2 % de la masse totale du sclérote. Partageant des similitudes structurelles avec les neurotransmetteurs, les alcaloïdes de l'ergot interagissent de manière antagoniste ou agoniste avec les récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques, la dopamine, la sérotonine 5-HT et d'autres récepteurs, altérant à la fois les fonctions psychologiques et motrices (Komarova and Tolkachev, 2001; Hicks et al., 2021).

L'ergotisme est probablement la plus ancienne mycotoxicose connue. Les épidémies humaines associées à la contamination par *Claviceps purpurea* de la farine de seigle étaient répandues en Europe centrale au Moyen Âge (l'épidémie de l'an 944 en Aquitaine et à Limoges en France qui fit 40000 morts) (Steyn, 1995).

## II. Les mycotoxines

### II.1. Généralités

À la fin des années 1800 et au début des années 1900, un certain nombre de chercheurs ont reconnu l'existence de métabolites secondaires produits par les champignons à l'état solide et liquide lors de leur fermentations connus de nos jours sous la dénomination de mycotoxines. Étant donné que quelques-uns des produits de ces fermentations étaient consommés par l'homme, un certain intérêt pour la toxicité de ces produits a été développé (Richard, 2007).

Le terme mycotoxine a été inventé en 1962 qui provient du mot grec : *Mycos*, à la suite d'une crise vétérinaire inhabituelle en Angleterre, au cours de laquelle environ 100 000 dindonneaux sont morts. Lorsque cette mystérieuse maladie X de la dinde a été liée à une farine d'arachides (arachides) contaminée par des métabolites secondaires d'*Aspergillus flavus* (aflatoxines), elle a sensibilisé les scientifiques à la possibilité que d'autres métabolites occultes de moisissures puissent être mortelles (Bennett, 1987; Tabuc, 2007; Zain, 2011).

Les mycotoxines sont un groupe structurellement diversifié de composés de faible poids moléculaire (entre 200 et 10.000 daltons), produits dans des conditions de température et d'humidité appropriées, et qui peuvent se développer sur divers aliments pour l'homme ou les animaux, entraînant ainsi de graves risques (Dinis et al., 2007; Krska et al., 2008).

Plus de 300 mycotoxines sont connues, cependant, l'attention scientifique se porte principalement sur celles qui se sont révélées cancérigènes et/ou toxiques (Abrunhosa et al., 2016). Seul une trentaine qui sont considérées comme mycotoxines (Turner et al., 2015), et six d'entre elles se retrouvent régulièrement dans les aliments qui sont : *les aflatoxines, les trichothécènes, la zéaralénone, les fumonisines, les Ochratoxines et la patuline*, causant ainsi des problèmes de sécurité alimentaire dans le monde entier (Alshannaq and Yu, 2017).

L'exposition humaine aux mycotoxines peut résulter de la consommation d'aliments d'origine végétale, et/ou des produits d'origine animale tels que la viande et les œufs, contaminés par des mycotoxines (Technology, 2003). Sachant que ces dernières, peuvent apparaître sur le terrain avant la récolte, après la récolte ou pendant la transformation, le stockage et la distribution, affectant négativement la qualité des aliments (Sforza et al., 2006).

La classification des mycotoxines est difficile à définir, en raison de leur production par un grand nombre d'espèces fongiques différentes, de leurs diverses structures chimiques et origines biosynthétiques, ainsi que de leurs innombrables effets biologiques. La formation de la personne effectuant la catégorisation a tendance à exprimer les schémas de classification, les cliniciens par exemple les classent souvent selon l'organe qu'ils affectent, ce qui en résulte que les mycotoxines peuvent être classées en hépatotoxines, néphrotoxines, neurotoxines, immunotoxines, ...etc. Par ailleurs, les biologistes cellulaires les classent dans des groupes génériques tels que les tératogènes, les mutagènes, les carcinogènes et les allergènes. Tandis que, les chimistes organiques ont tenté de les classer selon leurs structures chimiques (par exemple, les lactones, les coumarines) ; et les biochimistes selon leurs origines biosynthétiques (polycétides, dérivés d'acides aminés, etc.) ; les médecins par les maladies qu'ils provoquent, et les mycologues par les champignons qui les produisent (par exemple, les toxines d'*Aspergillus*, les toxines de *Penicillium*) (Bennett and Klich, 2003; Zain, 2011).

## II.2. La mycotoxinogénese

La présence de moisissures n'induit pas forcément la formation de mycotoxines (Pfohl-Leskowicz, 1999), cependant la production de ces dernières dépend de plusieurs facteurs qui peuvent être intrinsèques qui sont liés à la souche fongique ; et/ou extrinsèques qui dépendent des conditions de l'environnement.

### II.2.1. Facteurs intrinsèques

Les facteurs biologiques les plus importants sont liés aux espèces fongiques, la spécificité de la souche et l'instabilité des propriétés toxiques. En effet, d'une part, lorsque plusieurs espèces de

champignons sont présentes sur le même aliment, un effet dépressif peut être le résultat de la concurrence pour le substrat et il est possible que certaines souches décomposent certaines toxines, ce qui supprimerait leur synthèse, d'autre part, de nombreuses mycotoxines peuvent être produites par une seule espèce, et parfois la même toxine peut être produite par plusieurs espèces de genres différents (Le Bars et al., 1990; Le Bars and Le Bars, 1996), par exemple, *l'Aspergillus olivicola* peut produire *l'Aflatoxine* B1 et B2 et la *stérigmatocystine*, par ailleurs *l'Ochratoxine* A, peut-être synthétisée par deux genre différents qui sont *l'Aspergillus ochraceus* et *Penicillium verrucosum* (Li et al., 2011).

### II.2.2. Facteurs extrinsèques

La capacité des moisissures à produire des mycotoxines est fortement influencée par des facteurs environnementaux, notamment la température et l'humidité, ainsi que la disponibilité des nutriments. En effet, plusieurs facteurs doivent être réunis pour que les mycotoxines soient produites, notamment la nature de la denrée, le climat, les techniques agronomiques, le conditionnement des produits et les facteurs environnementaux (Hesseltine, 1976). Ces facteurs, présentés dans le tableau 1, peuvent être classés en 3 groupes : facteurs chimiques, physiques, et biologiques.

Tableau 1. Les facteurs extrinsèques influençant la production des mycotoxines (Atoui, 2006).

Facteurs chimiques	Facteurs physiques	Facteurs biologiques
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ La nature de la denrée</li><li>➤ L'oxygène</li><li>➤ Le dioxyde de carbone</li><li>➤ La saturation en minéraux</li><li>➤ Les traitements chimiques</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ La température</li><li>➤ L'humidité (temps de séchage, réhumidification, et humidité relative)</li><li>➤ Le damage mécanique et la façon de mélanger les grains</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ La variété des plantes</li><li>➤ La variété des souches fongiques</li><li>➤ La charge en spores</li><li>➤ Les insectes</li><li>➤ Le stress des plantes</li><li>...etc.</li></ul>

Les facteurs chimiques influencent la production des mycotoxines lorsque le substrat est encore au champ et surtout pendant le stockage, alors que les facteurs physiques et les facteurs biologiques ont tendance à affecter le produit au cours des 3 périodes (au champ, à la récolte, et pendant le stockage) (Atoui, 2006).

### II.2.3. Autres facteurs

Les micro-organismes « concurrents » peuvent influencer la formation de mycotoxines dans les produits agricoles par :

- La modification du métabolisme de l'organisme générateur,
- La modification de l'environnement pour le rendre défavorable au développement des mycotoxines,
- La création des produits chimiques inhibiteurs qui peuvent favoriser ou empêcher la création de mycotoxines.
- L'interaction avec d'autres microbes peut également varier selon l'environnement (Sanchis and Magan, 2004).

La nature du substrat est considérée comme un autre facteur qui influence la production des mycotoxines, car sa composition peut affecter l'expression de la capacité d'une toxine à sécréter des poisons. Le fait que des variations de cette expression puissent apparaître au sein d'une même espèce et expliquer les variations de puissance toxigène observées entre « souches » est crucial à noter. De plus, les isolats d'une même espèce ne possèdent pas toujours le même système enzymatique nécessaire à la production de mycotoxines (Dawson et al., 2004).

### II.2.4. Le classement des mycotoxines selon la voie de biosynthèse

D'après plusieurs études faites sur la classification des mycotoxines, et sachant que ces dernières ne constituent pas une classe chimique, les chercheurs ont établis un classement selon leur voie de biosynthèse, en les départageant en 3 groupes :

- a) les dérivés des acides aminés (peptides) : comme l'alcaloïde de l'ergot (ergotamine), *la roquefortine*, *l'acide cyclopiazonique*, *l'acide aspergillique*, *les fumitremorgènes*, *gliotoxine*, *sporidesmines*, ...etc.
- b) Les dérivés des terpènes : tel que *la toxine T2*, *déoxynivalénol*, *fusarénone*, *diacétoxyscirpénol*, *verrucarines*, ... etc.
- c) Les dérivés des polycétoacides (polyacétates) : dans le cas des *Ochratoxines*, *les aflatoxines*, *la zéaralénone*, *les fumonisines*, *la citrinine*, *l'acide pénicillique*, *la patuline*, *les stérigmatocystines*, ...etc (Steyn, 1995; Atoui, 2006; Nicholas et al., 2008).

## III. Les principales mycotoxines

C'est un phénomène bien connu que les toxines peuvent contaminer les réserves alimentaires. En fait, le déclin de plusieurs civilisations pourrait être attribué aux mycotoxicoses. La découverte des mycotoxines n'a eu lieu qu'en 1960, et les premières mycotoxicoses produites

en Grande-Bretagne ont causé des pertes importantes de dinde en raison d'une nécrose hépatique importante. Une famille de mycotoxines appelée aflatoxine était responsable de ces pertes (El-Banna et al., 1987; Frisvad et al., 2006).

En agroalimentaire on retrouve des mycotoxines dangereuses parmi les 2500 mycotoxines répertoriées jusqu'à présent, ces redoutables toxines sont principalement *les aflatoxines* ; les *Ochratoxines*, *les fumonisines*, *La zearalenone*, et *les trichothécènes* (Bourais and Amine, 2006).

### III.1. Les aflatoxines

Les *Aflatoxines* sont produites par quelques moisissures d'*Aspergillus* telles que *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* et le rare *Aspergillus nomius*. Cependant, parmi les 20 AF identifiées, seules quatre d'entre elles se produisent naturellement, et sont les plus toxiques : B1 (AFB1), B2 (AFB2), G1 (AFG1) et G2 (AFG2). Les lettres « B » et « G » se réfèrent aux couleurs produites par les composés sous la lumière UV, qui sont de fluorescence bleue et verte, tandis que les numéros 1 et 2 définissent si les composés sont majeurs ou mineurs respectivement (Alcaide-Molina et al., 2009). En 1963, des études sur l'*aflatoxine* B1 (AFB1) chez les vaches laitières, ont démontré que l'absorption de l'AFB1, lors de l'ingestion de tourteaux contaminés, est partiellement métabolisée en un dérivé, appelé « Milk *Aflatoxin* 1 » *aflatoxine* M1 (AFM1). En conclusion de ces études, les mycotoxines ont le pouvoir de contaminer l'alimentation de l'homme par :

- Voie directe « végétal-homme » ;
- Pseudo-directe « végétal-produits végétaux transformés-homme »,
- Voie indirecte : végétal-alimentation animale-produits animaux et dérivés-homme (Afssa, 2009).

Selon le classement de l'Agence internationale pour la Recherche sur le cancer (CIRC), les AFB1 sont définies comme étant l'hépatocarcinogène le plus puissant, classées comme cancérogènes pour l'homme (groupe 1) et AFM1 comme potentiellement cancérogènes pour l'homme (groupe 2B) (Santos Pereira et al., 2019).

Concernant la législation des *aflatoxines* dans l'alimentation humaine, les LM de l'UE des *aflatoxines* totales (c'est-à-dire la somme des AFB1, AFB2, AFG1 et AFG2) sont définies comme suit :

- 4 µg/kg pour les arachides et autres graines oléagineuses, les fruits secs, les fruits à coque ainsi que pour les céréales et leurs produits transformés qui sont destinés à

la consommation humaine directe ou à être utilisés comme ingrédient dans des denrées alimentaires ;

- 10 µg/kg pour les fruits à coque, les fruits séchés, le maïs et le riz soumis à un tri ou à un autre traitement physique avant la consommation humaine en tant qu'épices, figues sèches, amandes ou pistaches, les noyaux d'abricots, les noisettes et les noix du Brésil destinés à la consommation humaine directe ;
- 15 µg/kg pour les arachides et autres oléagineux, amandes, pistaches, abricots, noisettes et noix du Brésil soumises à un tri ou à un autre traitement physique avant la consommation (Smith et al., 2016).

Selon l'EFSA (Afssa, 2009), l'administration de régimes alimentaires avec des aliments contenant des teneurs élevées d'*Aflatoxines* dans le secteur avicole, la caille semble l'espèce la plus sensible, tandis que la poule serait un vecteur plus important de résidus que le poulet, avec la possibilité d'une excrétion dans les œufs.

### III.2. Les fumonisines

Les métabolites dangereux du contaminant mondial du maïs, *Fusarium moniliforme*, sont connus sous le nom de *fumonisines*. Les *fumonisines* sont fréquemment découvertes dans le maïs, les aliments pour animaux, et les aliments commerciaux à base de maïs, car le champignon et ses toxines sont souvent asymptomatiques et thermostables. La *fumonisine* B1 est la plus répandue des sept *fumonisines* isolées. Les mycotoxicooses expérimentales les plus connues chez les animaux de ferme sont la leucoencéphalomalacie équine et l'œdème pulmonaire du porc, ainsi que le cancer du foie chez le rat (Thibault et al., 1997; Mohammadi et al., 2021). La consommation de céréales contenant ces toxines a également été liée à des cas de mortalité chez les volailles qui sont considérés comme résistants aux *fumonisines* suite aux entérites nécrotiques responsables de diarrhées réduisant ainsi les performances zootechniques (Vudathala et al., 1994; Afssa, 2009).

L'exposition aux *fumonisines* peut jouer un rôle dans le développement de plaques d'athérosclérose et de cancer de l'œsophage chez l'homme, elles partagent des similitudes structurelles avec la sphingosine et peuvent exercer leur activité biologique en inhibant les enzymes nécessaires à la formation des sphingolipides (Jiang et al., 2014).

Les teneurs maximales en *fumonisines* (somme B1+B2) dans les denrées alimentaires établies par l'EFSA sont comme suit :

- Maïs brut: 2000 µg/kg.
- Farine de maïs, maïs moulu, gruau de maïs et huile de maïs raffinée :1000 µg/kg.

- Aliments à base de maïs destinés à la consommation humaine directe (à l'exception de farine de maïs, maïs moulu, gruau de maïs et huile de maïs raffinée : 400 µg/kg.
- Préparations à base de maïs destinées et aliments pour bébés destinés aux nourrissons et enfants en bas âge : 200 µg/kg (Afssa, 2009).

### III.3. *La zearalenone*

La principale mycotoxine produite par *Fusarium graminearum* est la *zéaralénone* qui se développe dans les céréales (maïs, orge, ...), principalement au champ (flore du champ), ou lors du stockage (Afssa, 2009). Elle résiste à la majorité des procédés utilisés en production alimentaire, et efficacement absorbée lorsqu'elle est administrée par voie orale et peut atteindre des cibles intracellulaires. Son métabolisme est complexe et dominé par des processus de réduction qui fonctionnent comme des activateurs biologiques et des réactions de conjugaison considérées comme des voies de détoxification. Cette toxine a aussi des propriétés oestrogéniques associées à une perturbation des fonctions de reproduction par fixation aux récepteurs des estrogènes (Gaumy et al., 2001).

Les volailles apparaissent comme l'espèce animale la plus résistante à la *zéaralénone*. Dans les études expérimentales sur les animaux, des concentrations de ZEN supérieures à 100 mg/kg sont généralement nécessaires pour produire des signes cliniquement significatifs (augmentation du poids de l'oviducte, sécrétions de mucus, prise de poids). La dinde serait l'oiseau reproducteur le plus sensible (Afssa, 2009).

Dans les matières premières et les aliments pour animaux, il n'existe pas de concentration maximale définie de *zéaralénone*. L'EFSA conseille toutefois d'appliquer les concentrations de *zéaralénone* maximales dans les produits alimentaires et les matières premières destinés à la consommation animale, comme dans le maïs brut qui est de 200 µg/kg (Afssa, 2009).

### III.4. *Les trichothécènes*

Plusieurs espèces de *Fusarium* produisent des mycotoxines appelées *trichothécènes*. Plus de 160 *trichothécènes* ont été identifiés et répartis en 4 groupes en fonction de leur structure chimique. Les principales sont les toxines T-2 et HT-2 (groupe A), les *toxines nivalénol* (NIV) et *désoxynivalénol* (DON) (groupe B), le DON étant la mycotoxine la plus répandue et la plus abondante. La majorité des contaminants *trichothécènes* présents dans l'alimentation humaine et animale se trouvent dans les céréales et leurs sous-produits (Aldred and Magan, 2004).

Chez les volailles les signes d'intoxications qui peuvent se manifester sont principalement liés à l'altération des indices de performances comme la chute de ponte ou l'augmentation de

l'indice de consommation ainsi que la chute du gain moyen quotidien (Gautier et al., 2020; Richard-Forget et al., 2020), accompagnés de lésions radiomimétiques sur le bec et la langue et cela après l'ingestion de 2 à 10 mg de toxine T-2, ou de 5 à 20 mg de DON par un Kg d'aliment pendant au moins 2 semaines (Afssa, 2009).

La Commission européenne recommande l'application de teneurs maximales en DON dans les matières premières et aliments destinés à l'alimentation animale comme 1250 µg/kg pour les céréales brutes (sauf riz) autres que le blé dur, l'avoine et le maïs qui ont une limite maximale de 1750 µg/kg de DON (Afssa, 2009).

### III.5. Les Ochratoxines

*Les Ochratoxines* sont des métabolites secondaires produites principalement par le champignon *Aspergillus ochraceus*, fréquemment responsable de la pourriture des graines et des semences, et de la contamination de produits agricoles comme le maïs, les céréales, le café et autres produits, surtout dans les climats chauds (Atoui, 2006). Une autre espèce de champignon a été reconnu pour sa production d'*Ochratoxines* qui est le *penicillium verrucosum*, et reconnue comme principale producteur d'*Ochratoxine A* (OTA), reconnue comme la substance la plus toxique de ce groupe, en climat tempéré caractérisé par une température optimale de 20°C. Le bassin méditerranéen est une localisation privilégiée pour ce champignon qui aime particulièrement l'humidité apportée par la mer, le soleil et les températures élevées (Frisvad et al., 2004; Azzoune, 2011).

#### III.5.1. L'*Ochratoxine A* (OTA)

En raison de leur prévalence dans les denrées alimentaires et du nombre de souches capables de produire de l'OTA, *P. verrucosum*, *A. ochraceus* (qui appartient à *A. section Circumdati*), *A. niger* et *A. carbonarius* (qui appartiennent toutes les deux à *A. section Nigri*) sont les espèces productrices d'OTA les plus pertinentes (Amezqueta et al., 2012), notez que cette mycotoxine peut exister dans les abats d'animaux (notamment le sang et les rognons) ayant consommé des aliments contaminés, et c'est par cette voie indirecte que l'OTA entre dans la chaîne alimentaire de l'homme lors de la consommation de produits issus d'animaux comme le lait, charcuteries, viandes.. etc (Afssa, 2009). Il est possible de trouver juste des traces d'OTA dans le lait de vaches car la flore ruminale a le pouvoir de dégrader cette mycotoxine (Atoui, 2006).

### III.5.1.1. Propriétés physico-chimiques et la nature d'OTA

La formule chimique de l'*Ochratoxine A* est : (OTA, C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>ClNO<sub>6</sub>) avec un poids moléculaire: 403,8) (Vesna et al., 2014; Tao et al., 2018). C'est un agent solide cristallin blanc, inodore, thermostable avec un point de fusion de 168 à 173 °C et une faible solubilité aqueuse. L'analyse structurale de l'OTA a révélé un métabolite secondaire dérivé du polycétide avec une liaison amide reliant son fragment dihydrocoumarine à la 1-β-phénylalanine (Phe), qui est formée à partir de la voie de l'acide shikimique (Authority, 2004; Gil-Serna et al., 2011). La figure 5 montre sa structure chimique.

L'OTA a un pH acide ou neutre, est soluble dans les solvants organiques polaires et rarement soluble dans l'eau, soluble et stable à pH alcalin dans une solution aqueuse de bicarbonate de sodium (0,1 M, pH 7,4) ainsi que dans les solutions aqueuses alcalines en général. Il s'agit d'un acide organique faible avec un pKa de 7,1 (Rouvier, 2002).

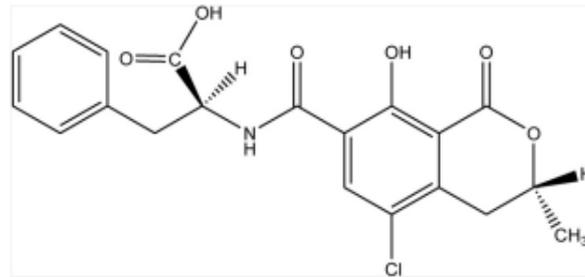


Figure 5. Structure chimique de l'*Ochratoxine A* (El Khoury and Atoui, 2010).

### III.5.1.2. Facteurs influençant la production d'OTA

La formation d'OTA se produit principalement après la récolte de céréales et de produits céréaliers insuffisamment séchés (Denli and Perez, 2010).

Les facteurs qui peuvent influencer la production d'OTA comprennent dans un premier lieu les conditions environnementales, telles que la température et l'activité de l'eau, la température optimale de production d'*Ochratoxine A* par *A. ochraceus* est de 28 °C et elle diminue à 15 ou 37 °C (Pasanen et al., 1991). En outre, *Penicillium verrucosum*, pousse à des températures allant de 4 à 30 °C avec une activité d'eau de 22 % (Mislivec and Tuite, 1970). Et en deuxième lieu le type et l'intégrité des graines, c'est-à-dire l'*A. ochraceus* pousse mieux dans les graines oléagineuses (arachides et soja) que dans les cultures céréalières, comme le blé et le maïs, alors que *P. verrucosum* peut mieux pousser dans le blé et le maïs (Magan and Lacey, 1988; Magan et al., 2002; Sanchis and Magan, 2004).

De nombreux facteurs biotiques d'origine nutritionnelle peuvent avoir un impact sur la production de biosynthèse de l'OTA. Alors que de nombreuses sources de carbone, telles que le glucose, le saccharose, le galactose ou la xylose, semblent inhiber la production d'OTA chez *A. ochraceus*, d'autres composés, tels que le lactose et les azotes organiques, tels que l'urée et les acides aminés, stimulent la production d'OTA (Wang et al., 2016).

### III.5.1.3. Toxicité de l'OTA

En 1965, l'OTA a été isolée et caractérisée chimiquement dans la farine de maïs délibérément inoculée avec *Aspergillus ochraceus*, l'OTA s'est révélée être un métabolite toxique du champignon (Bau et al., 2006; Malir et al., 2016). Cette découverte a été faite en Afrique du Sud. Des investigations complémentaires ont révélé que l'OTA est cancérigène, néphrotoxique, hépatotoxique, embryotoxique, tératogène, neurotoxique, immunotoxique, et génotoxique chez de nombreuses espèces avec des variations selon le sexe (Pfohl-Leszkowicz, 1999; Weidenbach and Petzinger, 2004).

En 1993, le Centre international de recherche sur le cancer a désigné l'OTA comme cancérigène potentiel pour l'homme (catégorie 2B) en raison d'une quantité substantielle de preuves démontrant la cancérogénicité du composé trouvées dans plusieurs études animales. La susceptibilité au cancer varie selon l'espèce et le sexe. L'exposition fréquente des animaux ou des humains à l'OTA peut entraîner toute une série de problèmes de santé (Bau et al., 2006; El Khoury, 2007; Krnjaja et al., 2014).

En raison de ses propriétés toxiques, l'OTA est soumise aux réglementations au niveau national et international. Toutefois, à ce jour, seule une recommandation non contraignante existe pour les niveaux d'OTA dans les aliments pour céréales et les aliments pour volaille dans l'UE (Recommandation de la Commission 2006/576/CE du 17 août 2006) relative à la présence de OTA dans les produits destinés à l'alimentation animale, et la limite de l'OTA dans les aliments pour volailles est de 0,10 mg/kg (Regulation, 2006).

### III.6. Les mycotoxines émergentes

Les mycotoxines émergentes sont un groupe de mycotoxines qui ne sont pas encore réglementées par la loi, mais qui sont de plus en plus reconnues comme des contaminants importants dans les céréales comme le maïs, le blé et le riz. Ces toxines, telles que la *beauvéricine* (BEA) et les *Enniatines* (ENN), retiennent l'attention en raison de leur prévalence et de leurs risques potentiels pour la santé. Les recherches indiquent que les mycotoxines

émergentes peuvent contaminer les produits alimentaires, ce qui suscite des inquiétudes quant à leur toxicité et leur impact sur la santé humaine (Agriopoulou, 2016; Chiminelli et al., 2022).

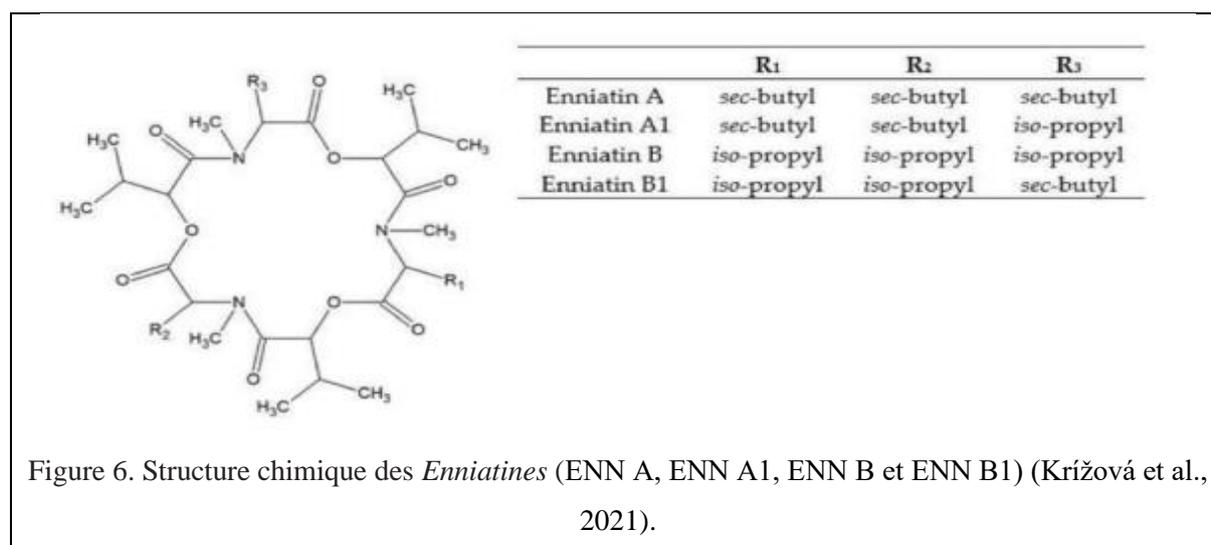
### III.6.1. Les *Enniatines*

Les *Enniatines* sont des mycotoxines produites par diverses espèces de *Fusarium*, notamment *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum* et d'autres, que l'on trouve couramment dans les produits alimentaires (Blesa et al., 2014). En 1947, les *Enniatines* (ENN) ont été initialement reportées, la première *enniatine* isolée du champignon *Fusarium oxysporum*, anciennement connu sous le nom de *Fusarium orthoceras*, était l'*enniatine* A (ENN A) (Gäumann et al., 1947). L'aliment le plus touché par les *Enniatines* c'est les céréales et les produits à base de céréales comme les farines et les aliments destinés à l'alimentation des animaux (Prosperini et al., 2017; Gautier et al., 2020).

#### III.6.1.1. Propriétés physico-chimiques et la nature des *Enniatines*

Les *Enniatines* sont des hexadepsipeptides cycliques constitués de résidus d'acides aminés alternés (Blesa et al., 2014). Ils sont composés de trois résidus d'acide D-hydroxy et de trois résidus d'acide aminé L liés par des liaisons ester et amide, formant un cycle à 18 chaînons (Sifou et al., 2011), la figure 6 montre la structure chimique des *Enniatines*.

Les *Enniatines* les plus courantes sont ENN A, ENN A1, ENN B et ENN B1, avec des analogues supplémentaires comme B2, B3, B4, D, E, F et G également identifiés (Zinedine et al., 2011), les différences structurelles liées au N-méthyl-aminoacide sont responsables des différentes bio activités de ces mycotoxines (Shin et al., 2009).



Les ENN ne sont pas solubles dans l'eau. Étant donné que les chaînes latérales des molécules sont non polaires et s'étendent depuis leur surface externe, ces composés sont généralement considérés comme lipophiles. Ils ont la capacité de s'intégrer dans les bicouches lipidiques des

membranes cellulaires, perturbant ainsi la concentration normale de cations dans la cellule (Tonshin et al., 2010), elles sont aussi thermostables (de Nijs et al., 2016).

### III.6.1.2. Facteurs influençant la production des *Enniatines*

Il est essentiel de garder à l'esprit que le climat a un impact significatif sur la formation de *Fusarium*. Lors de la floraison des céréales, une atmosphère humide et tempérée (environ 25°C) favorise l'implantation du champignon et l'infection ultérieure des plantes (Parry et al., 1995). Le *Fusarium* produit davantage lorsque le pH est alcalin que lorsqu'il est acide ou neutre (Audhya and Russell, 1974).

Il existe plusieurs leviers agronomiques qui permettent aux agriculteurs de diminuer la quantité d'inoculum primaire de *Fusarium* présent dans leurs parcelles. Cela contribue à réduire les risques d'infection de leurs cultures par ce champignon pathogène (Pereyra and Dill-Macky, 2008).

Une des pratiques recommandées est le labour combiné au broyage des résidus végétaux restants au sol (Wegulo et al., 2015). Cette technique favorise la décomposition de ces résidus, éliminant ainsi des sources d'inoculum (Vogelgsang et al., 2019).

Intégrer dans la rotation culturale des plantes non-hôtes du champignon, comme le soja ou le colza, est également un bon moyen de limiter les risques. En revanche, cultiver du maïs ou d'autres céréales à paille juste avant augmente les risques car ce sont des hôtes de *Fusarium* (Schirdewahn et al., 2016).

### III.6.1.3. Toxicité des *Enniatines*

Ces composés présentent un large éventail d'activités biologiques, agissant comme inhibiteurs d'enzymes, agents antifongiques et antibactériens et substances immunomodulatrices (Aloui et al., 2023). Les *Enniatines* exercent leurs effets inhibiteurs sur les systèmes animaux en agissant comme des ionophores, modifiant le transport des ions à travers les membranes et perturbant la sélectivité ionique des parois cellulaires (Chakroun et al., 2022).

Elles peuvent avoir une fonction antivirale, et une autre antibactérienne (contre *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* et les bactéries acides) ainsi qu'une fonction antifongique en plus d'être cytotoxique (provoquant la mort cellulaire dans divers types de cellules de mammifères et cancéreuses) (Föllmann et al., 2009; Kolf-Clauw et al., 2013; Krížová et al., 2021).

Des doses élevées d'ENN peuvent toutefois avoir un impact immunotoxique en plus de diminuer la fermentation ruminale (Ficheux et al., 2013; Sotnichenko et al., 2019), et les aliments d'origine animale comme les œufs et le lait (Jestoi et al., 2009).

Après que les lignées de cellules hépatiques ont été exposées à *l'enniatine* B pendant 24 heures, il a été démontré que les *Enniatines* provoquaient une hépatotoxicité considérable (qui n'était pas aussi durable que celle de *l'afatoxine* B1) (Svingen et al., 2017). De nombreuses équipes ont également détaillé les effets sur le système immunitaire, notamment lors de la maturation des cellules dendritiques et de la différenciation des monocytes en macrophages (Gammelsrud et al., 2012).

### III.6.2. La *Beauvericine*

Plusieurs espèces de *Fusarium*, telles que *Fusarium verticillioides* et *Fusarium proliferatum*, entre autres, sont connues pour produire la mycotoxine *beauvéricine*, connue pour contaminer les denrées alimentaires comme le blé, le riz, et d'autres (Blesa et al., 2014). La *Beauvericine* a été signalée pour la première fois comme étant produite par des champignons entomopathogènes tels que *Beauveria bassiana* et *Paecilomyces fumosoroseus* (Hamill et al., 1969).

#### III.6.2.1. Propriétés physico-chimiques et la nature de la *Beauvericine*

La *beauvéricine* fait partie de la famille des *Enniatines*, c'est un hexadepsipeptide cyclique (Shin et al., 2009). Dans un ordre alternatif, il contient trois résidus D-hydroxyisovaléryl et trois résidus N-méthylphénylalanyle. La *beauvéricine* diffère des *Enniatines*, en termes de nature de l'acide N-méthylaminé, bien qu'elles soient structurellement identiques. La *beauvéricine* et les *Enniatines* diffèrent les unes des autres et, par conséquent, leurs bioactivités sont clairement différentes (García and Jarque, 2014), la figure 7 montre la structure chimique de la *Beauvericine*.

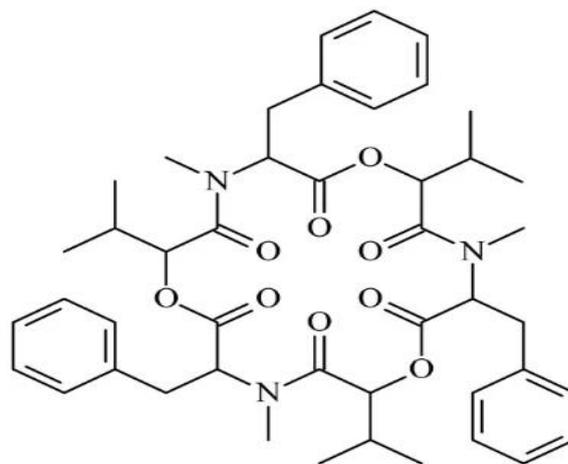


Figure 7. Structure chimique de la *Beauvericine* (Wang and Xu, 2012).

### III.6.2.2. Facteurs influençant la production de la *Beauvericine*

La biosynthèse de la *beauvericine* chez *Fusarium proliferatum* est catalysée par une enzyme multifonctionnelle appelée *beauvericine* synthase, codée par le gène *bea*. L'expression de ce gène, et donc la production de la toxine, est finement régulée par divers facteurs environnementaux tels que la source de carbone, la nature des sources d'azote, le pH du milieu, les conditions de luminosité et la température (Wang and Xu, 2012; Niehaus et al., 2016).

Les conditions optimales de température se situent généralement autour de 25-30°C pour *F. proliferatum*, mais peuvent varier selon les espèces, atteignant 35°C pour *F. subglutinans*. Un pH acide à neutre ainsi que l'obscurité semblent également plus favorables à une production accrue (Logrieco et al., 1998; Rabaaoui et al., 2021).

La nature des sources de carbone et d'azote influence fortement les niveaux de biosynthèse. L'ajout de glycérol stimule la production, tout comme l'apport de sources d'azote organique telles que les peptones (Logrieco et al., 2002).

Au-delà des conditions de culture, le potentiel de production diffère grandement selon les souches fongiques considérées. Certaines souches particulièrement productrices isolées de maïs ont ainsi pu atteindre des taux records (Plattner and Nelson, 1994 ; Logrieco et al., 2002).

### III.6.2.3. Toxicité de la *Beauvericine*

La *beauvericine* est une mycotoxine présentant un large spectre d'activités biologiques. Elle a été initialement isolée du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* et démontre des propriétés insecticides contre diverses espèces de moustiques vecteurs (*Aedes aegypti*, *Culex pipiens*) ainsi que d'autres insectes ravageurs comme la mouche *Calliphora erythrocephala* ou le doryphore *Leptinotarsa decemlineata*. Des études in vitro ont également mis en évidence son activité antimicrobienne permettant de réduire les populations de bactéries intestinales, de *Mycobacterium tuberculosis*, de *Plasmodium falciparum* et d'espèces fongiques variées (Pleiss et al., 1996; Shin et al., 2009; Chain, 2014).

Au-delà de ces effets contre les insectes et microorganismes, la *beauvericine* présente une cytotoxicité préoccupante pour les cellules de mammifères. Son mode d'action implique l'induction d'une cytolysse par rupture des membranes plasmiques ainsi qu'une fragmentation internucléosomale de l'ADN, conduisant à déclencher une mort cellulaire programmée par apoptose (Shin et al., 2009; Tedjiosop Feudjio et al., 2010; Wang and Xu, 2012).

Cette mycotoxine est également un inhibiteur spécifique de l'enzyme cholestérol acyltransférase qui joue un rôle clé dans le métabolisme du cholestérol en catalysant son estérification et son transport (Luz et al., 2017).

Les tests toxicologiques menés sur différents modèles cellulaires soulignent ainsi les dangers potentiels de la *beauvericine* pour la santé humaine et animale en cas d'exposition par ingestion de denrées contaminées (Svingen et al., 2017).

Jusqu'à nos jours, il n'existe pas de réglementation spécifique sur les teneurs maximales en *beauvericine* autorisées dans les denrées alimentaires au niveau international. Cependant, cette mycotoxine émergente suscite des préoccupations grandissantes en raison de sa toxicité avérée et de sa co-occurrence fréquente avec d'autres mycotoxines majeures dans diverses céréales et produits céréaliers (Křížová et al., 2021).

### **IV. Les méthodes de détection des mycotoxines**

L'analyse des mycotoxines, revêt une importance capitale en termes de sécurité alimentaire et de santé publique (Vidal et al., 2013). Traditionnellement, leur détection repose sur des méthodes officielles réalisées dans des laboratoires accrédités, faisant appel à des techniques sophistiquées telles que la chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée à des détecteurs de masse (MS) ou de fluorescence (FLD). Cependant, face à la demande croissante en tests de mycotoxines, les méthodes rapides et sur site sont devenues une alternative de choix (Nicholas et al., 2008; Turner et al., 2015), le tableau 2 résume quelques méthodes de détection. Les techniques analytiques conventionnelles impliquent généralement des étapes d'extraction, de purification et de séparation, suivies de la détection proprement dite. Bien que robustes, ces approches présentent certaines limites, notamment en termes de coût, de temps d'analyse et de complexité de mise en œuvre sur le terrain. C'est pourquoi ces dernières années ont vu l'émergence de méthodes plus simples, portables et économiques, parmi lesquelles les biocapteurs occupent une place de choix (Vidal et al., 2013; Chauhan et al., 2016).

Ces biocapteurs exploitent les propriétés intrinsèques des mycotoxines, molécules de petite taille et neutres, en les couplant à divers marqueurs tels que des enzymes, fluorophores, nanoparticules ou sondes redox. Les approches immunochimiques, et plus particulièrement les immunocapteurs électrochimiques, ont connu des avancées majeures, offrant des limites de détection abaissées, une grande stabilité et une bonne reproductibilité. Bien que prometteurs, ces dispositifs requièrent encore des améliorations pour répondre pleinement aux enjeux de sécurité alimentaire (Catanante et al., 2016; Goud et al., 2017).

Tableau 2. Les méthodes de détections des mycotoxines les plus utilisées.

<b>Méthode</b>	<b>Principe</b>	<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
<b>CCM</b>	Chromatographie sur couche mince	Peut tester simultanément plusieurs échantillons ; elle peut donc être utilisée comme test d'analyse avant les méthodes instrumentales plus avancées (Shephard, 2008).	C'est une méthode uniquement qualitative ne permettant pas le dosage d'un composé (Huybrechts et al., 2013)
<b>HPLC</b>	Chromatographie en phase liquide à haute performance, Colonnes à base de silice liées aux groupes C8 ou C18 fusionnés avec une phase mobile composée de mélanges binaires ou ternaires de solvants polaires comprenant de l'acétonitrile et de l'eau ou méthanol (Beizaei et al., 2015).	Permet l'identification, la séparation et la quantification des métabolites C'est la méthode privilégiée pour détecter les aflatoxines (Beizaei et al., 2015).	Nécessite un entretien de l'appareillage plus fréquent et qui est coûteux (Abd-Elghany and Sallam, 2015)
<b>ELISA</b>	Tests immuno-enzymatiques et une technologie qui repose sur la capacité d'un anticorps spécifique à différencier la structure tridimensionnelle d'une mycotoxine spécifique (Zheng et al., 2006).	Les kits de tests ELISA offrent l'avantage de leurs tests à haut débit avec de faibles volumes d'échantillons et généralement moins de procédures de nettoyage des extraits d'échantillons par rapport aux méthodes conventionnelles telles que HPLC et CCM (Zheng et al., 2005; Zheng et al., 2006).	

Tableau 2. Les méthodes de détections des mycotoxines les plus utilisées (suite).

Méthode	Principe	Avantages	Inconvénients
LC-MS	C'est une combinaison entre la chromatographie liquide et la spectrométrie de masse (Alcaide-Molina et al., 2009).	Propose une sensibilité ; précision et sélectivité des contaminants présents dans les produits agricoles. La LC-MS est largement utilisée comme méthode de routine pour la détermination des mycotoxines dans différentes matrices (Songsermsakul and Razzazi-Fazeli, 2008; Alcaide-Molina et al., 2009). La séparation chromatographique fonctionne bien en utilisant une colonne courte qui offre une détermination rapide avec des pics chromatographiques précis réduisant la consommation de phase mobile (Ventura et al., 2004).	Pour l'apparition du tandem ; une préparation d'échantillon et une séparation chromatographique appropriées sont nécessaires. Cette méthode est performante avec différentes matrices comme celles de cacahuètes et de figues ; mais elle ne convient pas aux épices en raison des limites de la méthode de nettoyage utilisée (c'est-à-dire la présence de pics interférents dans les chromatogrammes) (Vahl and Jørgensen, 1998; Ventura et al., 2004).
AFB1-UPT-LF	En 2016, une méthode rapide de détection de l'AFB1 a été développée en Chine, qui consiste en un test à flux latéral compétitif basé sur la technologie du phosphore à conversion ascendante (Zhao et al., 2016).	la sensibilité de détection de cette méthode peut atteindre $0,03\text{ng.ml}^{-1}$ , pour le standard des solutions AFB1, et le coefficient de variance était inférieur à 10 % (de 1,0 à 9,4 %), La méthode prend 40 minutes entre l'extraction et les résultats. (Zhao et al., 2016).	Spécifique à AFB1 (Zhao et al., 2016)

Tableau 2. Les méthodes de détections des mycotoxines les plus utilisées (suite).

Méthode	Principe	Avantages	Inconvénients
Un signal sur aptasensor électrochimique	Un signal simple sur aptasensor électrochimique a été développé afin d'avoir une détection rapide d'AFB1 ; cette méthode est basée sur la compétition entre AFB1 et l'ADN complémentaire (ADNc) dans la liaison à l'aptamère marqué au méthylène bleu modifié sur électrode d'or (Wang et al., 2019).	Fonctionnement avancé, simple et rapide à faible coût (Wang et al., 2019).	Cette méthode peut interférer avec d'autres aflatoxines, c'est-à-dire AFB2, AFG1, AFG2. Afin d'éviter de telles interférences, un prétraitement de l'échantillon est nécessaire (Wang et al., 2019).
UHPLC-MS/MS	L'injection permet de séparer les molécules. ensuite les détecter par le spectromètre de masse, générant des pics chromatographiques. L'aire de chaque pic est proportionnelle à la concentration du composé correspondant dans l'échantillon (Capriotti et al., 2012).	Une méthode analytique puissante qui combine les compétences d'analyse chimique de la spectrométrie de masse (MS) avec les capacités de séparation chromatographique de la chromatographie liquide (LC) (González-Jartín et al., 2021).	Cette technique nécessite des équipements sophistiqués et coûteux, ainsi que du personnel qualifié pour leur utilisation et leur maintenance. De plus, la préparation des échantillons peut être laborieuse et chronophage, ce qui augmente les coûts d'analyse. Aussi la difficulté de mettre en œuvre cette méthode sur le terrain ou directement sur les sites de production, car ces équipements sont généralement confinés dans des laboratoires spécialisés. Cela rallonge les délais d'obtention des résultats (Hidalgo-Ruiz et al., 2019; Narduzzi et al., 2023).

# Chapitre II :

## Matériel et méthodes

### I. Stratégie et objectif de l'étude

Dans le but d'étudier la prévalence et l'occurrence des mycotoxines dans le secteur de la poule pondeuse, deux matériaux ont été étudiés :

- L'aliment destiné à l'alimentation des poules pondeuses.
- Les œufs destinés à la consommation.

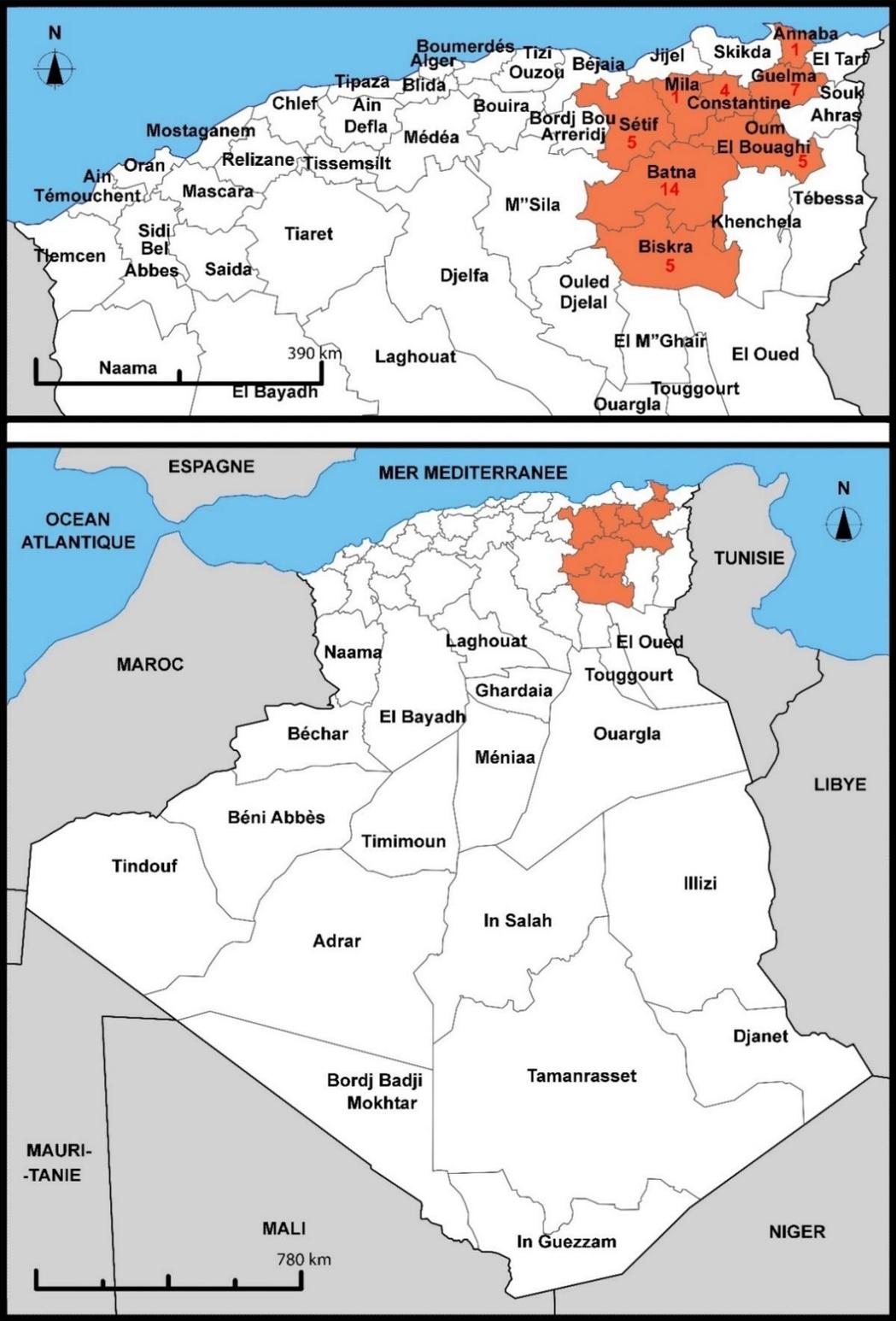
Afin de réaliser cela, les étapes suivantes ont été suivies :

1. Une enquête sur terrain sous forme de questionnaire destiné aux fermes avicoles, dans le but de collecter les informations nécessaires pour relever les détails qui peuvent enrichir cette étude en se focalisant sur l'aliment distribué, et la collecte des échantillons en même temps.
2. Une étude mycologique qui a pour objectif de distinguer les champignons mycotoxinogènes qui peuvent exister en abondance dans l'aliment.
3. Une lyophilisation des œufs pour pouvoir les transporter afin de les analyser à l'étranger.
4. Préparation et extraction des œufs et de l'aliment afin de les analyser par UHPLC-MS/MS, et de connaître la prévalence des mycotoxines émergentes.
5. Préparation et extraction de l'aliment afin de l'analyser en utilisant un Kit ELISA et détecter la présence de *Ochratoxine A*.

### II. Méthodologie de l'enquête

L'enquête a été menée dans la zone EST de l'Algérie, plus exactement dans 8 wilayas (Annaba, Batna, Biskra, Constantine, Guelma, Oum El Bouaghi, Mila, Sétif) comme le montre la figure 8, durant la période allant d'Octobre jusqu'à Décembre 2022, en même temps la collecte des échantillons a été faite.

Chapitre II : Matériel et méthodes



**MAP KEY:**  
 Study region ( the number represent the collected samples from each state ).  
 — States administrative limits.  
 — Territorial limits of Algeria.

Figure 8. Carte montrant les wilayas concernées par l'enquête (Laouni et al., 2024).

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

Durant le déroulement de cette enquête on s'est adressé aux propriétaires des fermes avicoles et aux vétérinaires chargés, en observant et en posant des questions dans l'ordre suivant : (le questionnaire est dans annexe 1)

- 1) L'identification de l'exploitation (Wilaya, Commune, Capacité de l'exploitation (Nombre de bâtiments), Mode d'élevage (durant la production des œufs).
- 2) Le Cheptel (Provenance des poules, Souche, Age des poules).
- 3) Conduite sanitaire (Plan vaccinal, Analyses périodiques).
- 4) Concernant l'aliment (Origine de l'aliment, les matières premières et leur forme, les quantités achetées, le mode de stockage, l'utilisation des additifs, l'utilisation des capteurs de mycotoxines et les quantités utilisées, temps de stockage, mode de distribution...).
- 5) Des questions sur les mycotoxines (la connaissance préalable des mycotoxines et sur la possibilité de transfert de certaines mycotoxines de l'aliment à l'œuf, la disposition d'un plan de surveillance des aliments en matière de moisissures, la conduite à tenir lorsque l'aliment s'avère moisi, constatation de différence après l'utilisation des capteurs mycotoxiques sur la production et la qualité de l'œuf et sur la santé des poules).
- 6) Les paramètres technico-économiques (durée de la production en semaines), taux de mortalité en période d'élevage, taux de mortalité en période de production, Consommation d'aliment (sujet/jour en grammes), taux de ponte, pic de ponte (à quel moment de la production en semaines), stabilité (persistance) du pic de ponte).

### **II.1. La collecte et le traitement des données**

42 questionnaires ont été remplis et exploités. Les données recueillies ont été saisies et analysées statistiquement à l'aide du logiciel MINITAB 2019, l'analyse de la variance a été réalisée pour expliquer la signification de variabilité de moyennes quantitatives. La comparaison des moyennes a été effectuée selon le test de Tukey au seuil de signification de 0,05. La liaison des variables nominales a été étudiée par le test Khi 2.

## **III. Echantillonnage**

Un total de 42 échantillons d'aliments destiné à l'alimentation des poules pondeuses, et 350 œufs de consommation ont été obtenus à partir de fermes avicoles distinctes réparties dans différentes wilayas de la région étudiée. La répartition de ces échantillons est la suivante : 14 échantillons ont été acquis à Batna, 7 à Guelma, 5 à Biskra, 5 à Oum El Bouaghi, 5 à Sétif, 4 à Constantine, 1 à Mila et 1 à Annaba.

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

Parmi ces 42 échantillons d'aliment seulement 10 ont été analysés par UHPLC-MS/MS, 3 échantillons d'aliment de Guelma avec 90 œufs des mêmes fermes, 3 échantillons d'aliment de Biskra avec 80 œufs des mêmes fermes et 50 œufs de 3 différentes superettes de la wilaya, 3 échantillons d'aliment de Batna avec 90 œufs des mêmes fermes, et enfin un seul échantillon d'aliment d'Oum el Bouaghi avec 40 œufs de la même ferme.

### **IV. Etude mycologique**

L'objectif de cette étude est de caractériser la population fongique et de savoir quels sont les champignons mycotoxinogènes éventuellement abondants, abondants dans l'aliment. Cette partie a été réalisée dans les laboratoires du département des sciences de la nature et de la vie, El Hadjeb, université de Biskra.

Pour réaliser cette étape deux méthodes d'énumération fongique ont été appliquées, la méthode directe ou dite d'Ulster, et la méthode indirecte par la dilution de la solution mère.

#### **IV.1. Méthode d'ensemencement direct**

Les échantillons d'aliment de poules pondeuses ont été directement ensemencés sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar). Pour ce faire, une petite quantité représentative de l'échantillon d'aliment (5g) a été prélevée à l'aide d'une anse stérile, puis déposée au centre de la boîte de Petri contenant le milieu PDA coulé et solidifié par la suite. La boîte ensemencée a ensuite été incubée à 25°C pendant 5 à 7 jours. Après incubation, la croissance fongique a été observée macroscopiquement et microscopiquement afin d'identifier d'éventuelles moisissures contaminant l'aliment de volailles.

#### **IV.2. Méthode d'ensemencement indirect (par dilution)**

10 g de chaque échantillon d'aliment ont été introduits dans 90 ml d'eau stérile pour obtenir une dilution au 1/10<sup>ème</sup>. Cette suspension mère a ensuite été agitée vigoureusement. Des dilutions décimales successives ont été réalisées jusqu'à 10<sup>-4</sup> et 0,1 ml de chaque dilution a été étalé à la surface du milieu PDA dans des boîtes de Petri. Les boîtes ensemencées ont été incubées à 25°C pendant 5 à 7 jours.

Après incubation des boîtes ensemencées par dilution, des colonies fongiques caractéristiques ont été repiquées de façon aseptique sur 3 milieux de culture différents à l'aide d'une anse stérile : gélose Malt, gélose Sabouraud additionnée de chloramphénicol et PDA. Le repiquage a été réalisé en striant la surface des milieux en 3 points. Les milieux ensemencés ont été incubés à 25°C pendant 5 à 7 jours. La gélose Malt permet la sporulation des moisissures. Le Sabouraud

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

additionné d'antibiotique inhibe les bactéries. Le PDA est un milieu riche permettant une bonne croissance fongique. Après incubation, l'observation macroscopique et microscopique des colonies isolées sur les différents milieux a été réalisée pour identification finale par analyse des caractéristiques morphologiques et structurales des moisissures.

### **IV.3. Identification des isolats**

#### **IV.3.1. Identification morphologique**

L'identification morphologiques des espèces fongiques se base sur une observation macroscopique des colonies pures : taille, forme, texture, couleur, vitesse de croissance, etc. et une observation microscopique qui se fait après une préparation d'un frottis à partir de la culture pure et sa coloration au bleu de lactophénol, ou par le prélèvement avec un ruban adhésif qui est appliqué directement et délicatement sur la colonie et passage sous microscope optique avec grossissements x40, x100, x400. L'étude microscopique permet la caractérisation du mycélium (septé ou non septé), l'observation des éléments reproducteurs (Forme, taille, couleur des conidiophores, disposition des conidies), la présence ou non de clamydospores. Pour à la fin faire une comparaison des caractéristiques observées avec des clés d'identification et des atlas de mycologie (Pitt and Hocking, 2009).

#### **IV.3.2. Purification et la conservation des isolats**

Après obtention de colonies pures (figure 9), des repiquages ont été effectués pour purification et conservation à long terme des isolats. Pour cela, à l'aide d'une anse stérile, des fragments de mycélium ont été prélevés en périphérie des colonies pures et inoculés par stries sur des tubes contenant du milieu Sabouraud additionné de chloramphénicol et inclinés à 45°, et conservés à – 20°C.

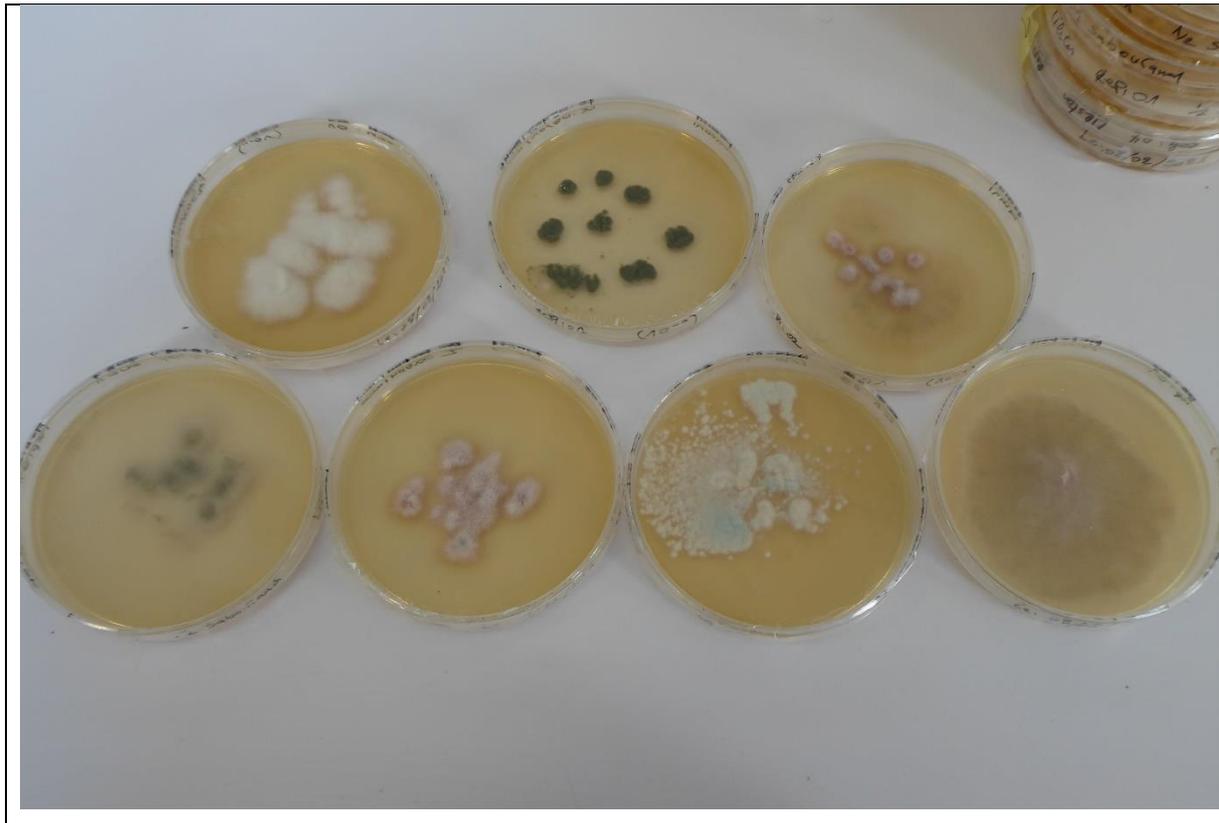


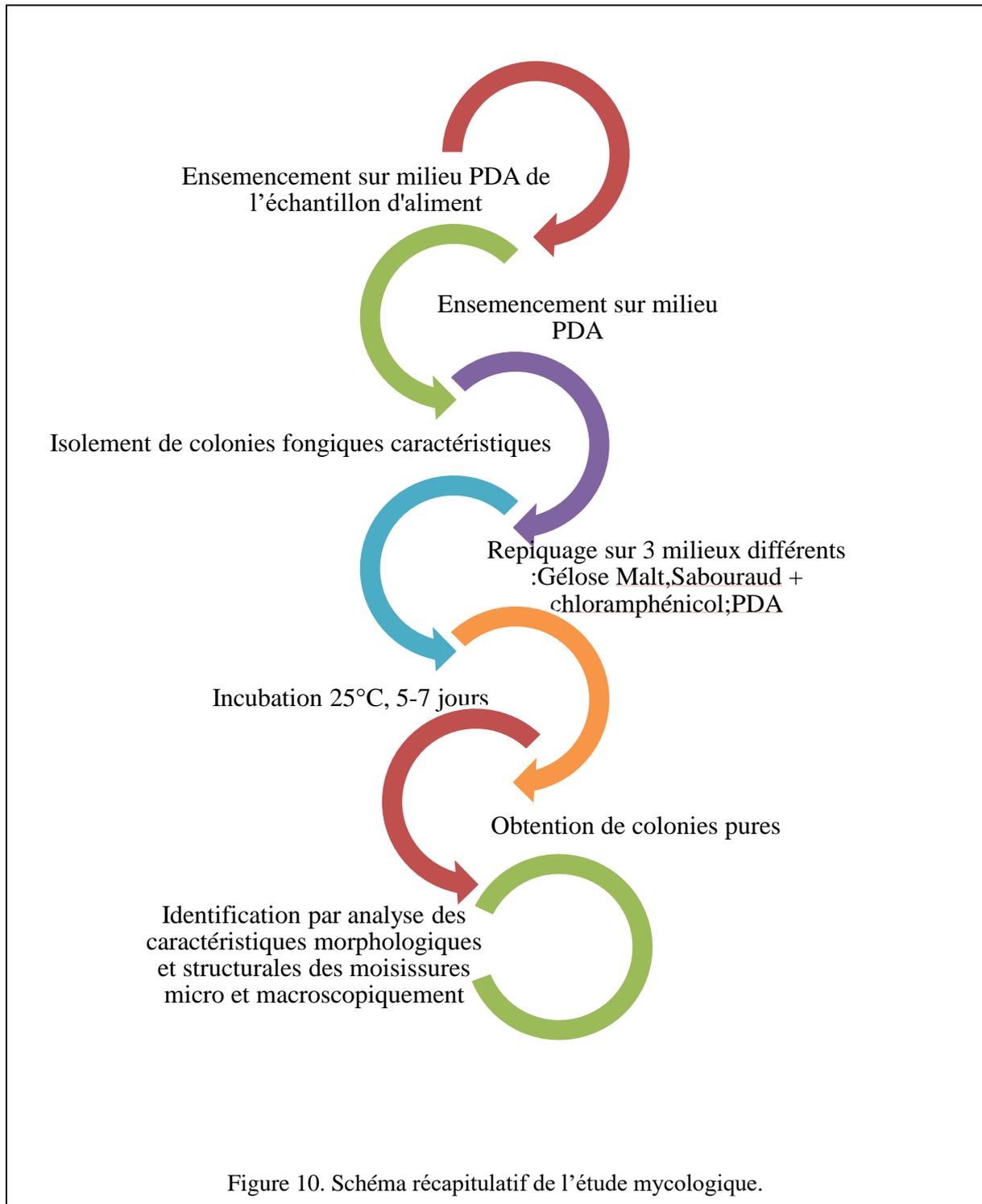
Figure 9. La purification des colonies.

### IV.3.3. Quantification et le pourcentage des isolats

Pour calculer le pourcentage d'isolats pour chaque espèce on a utilisé la formule suivante :

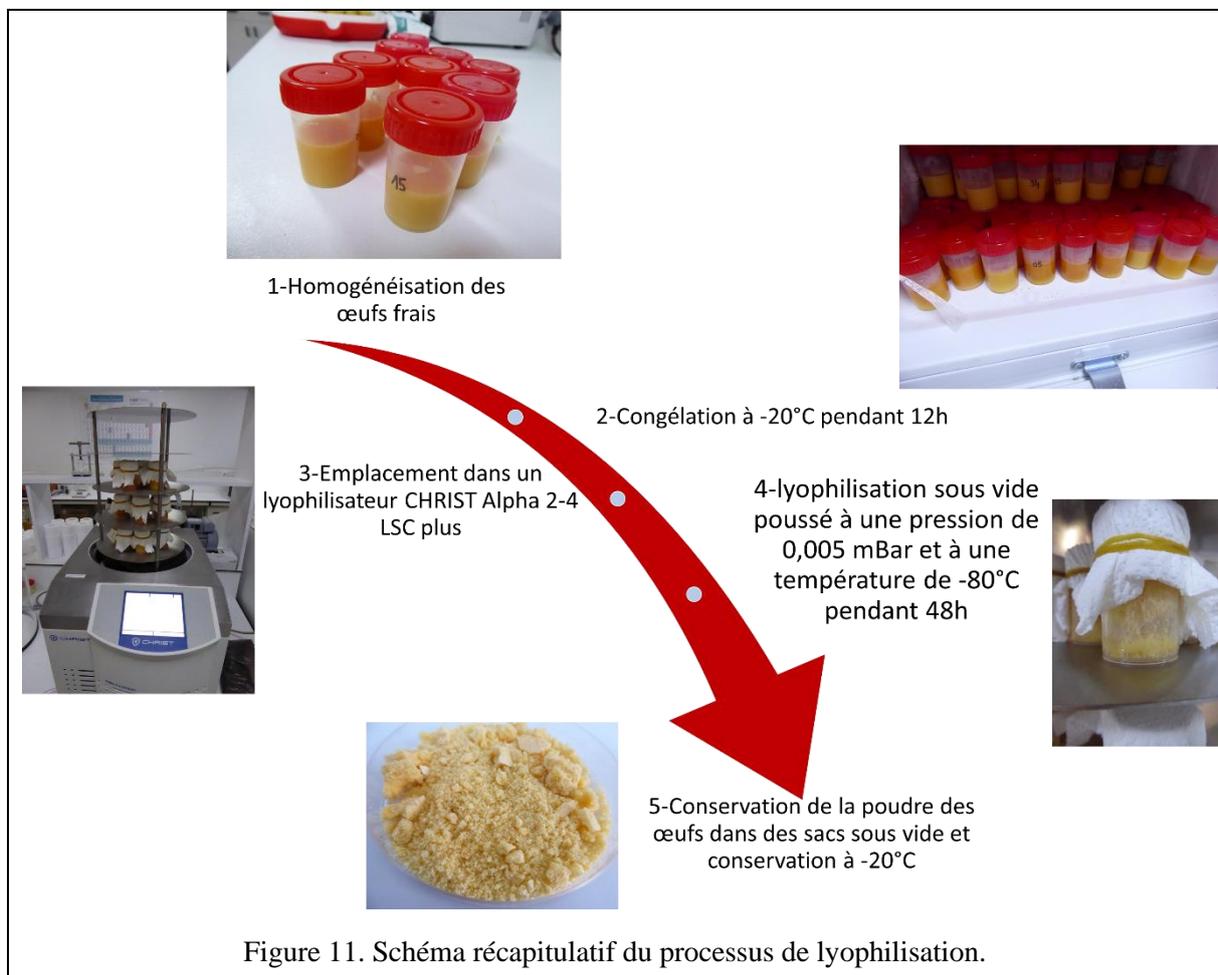
$$\text{Pourcentage d'isolats d'une espèce X} = \left( \frac{\text{Nombre d'échantillons contaminé par l'espèce X}}{\text{Nombre total d'échantillons}} \right) \times 100$$

La figure 10 montre le schéma récapitulatif de la méthode utilisée.



## V. La lyophilisation des œufs

Les œufs ont été lyophilisés selon la méthode décrite par Tomczyk et al. (2019), avec quelques modifications. Brièvement, chaque œuf (jaune + blanc) a été cassé stérilement et chaque 10 œufs du même échantillon ont été homogénéisés (au total 350 œufs pour avoir 35 échantillons analysés selon la méthode décrite par Frenich et al. (2011). Le mélange a été transféré dans des tubes de 50 ml. Les tubes ont été congelés à  $-20^{\circ}\text{C}$  pendant 12h puis placés dans un lyophilisateur CHRIST Alpha 2-4 LSC plus, pour lyophilisation. La lyophilisation a été conduite sous vide poussé à une pression de 0,005 mBar et à une température de  $-80^{\circ}\text{C}$  pendant 48h. Finalement, les échantillons lyophilisés ont été numérotés dans des sacs sous vide et conservés à  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'à analyse (figure 11). Cette partie a été réalisée au niveau du CRAPC de Ouargla, Algérie.



Afin de s'assurer que la lyophilisation n'altère pas la présence de mycotoxines, la même procédure décrite précédemment a été reproduite au laboratoire de chimie analytique de Grenade en Espagne. Deux portions d'un échantillon témoin ont été utilisées : une portion

## Chapitre II : Matériel et méthodes

laissée fraîche et fortifiée et une fortifiée en mycotoxines et lyophilisée par la suite, les deux portions ont été fortifiée par la même concentration de 40 µl. Les teneurs en mycotoxines ont ensuite été analysées et comparées entre l'échantillon témoin frais et l'échantillon fortifié lyophilisé (figure12).

Les résultats ont montré des teneurs similaires en mycotoxines entre ces deux échantillons. Ceci a permis de confirmer que le processus de lyophilisation n'a pas d'influence sur la présence ou la concentration en mycotoxines dans les échantillons. La lyophilisation peut donc être utilisée en amont des analyses sans risque de fausser les résultats.

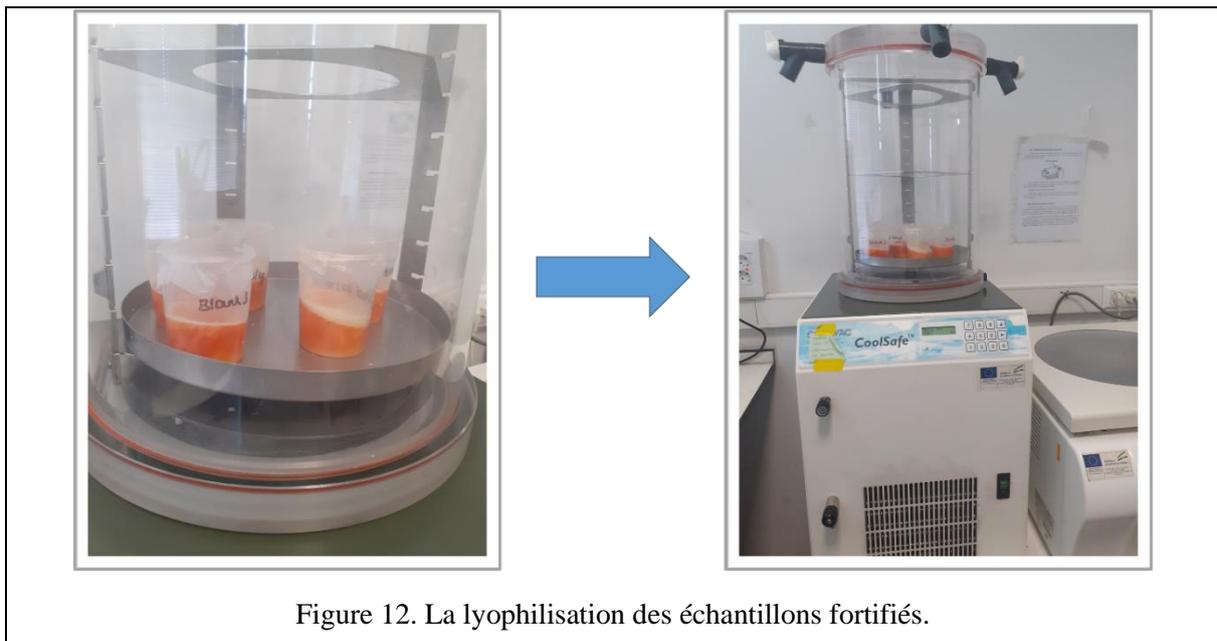


Figure 12. La lyophilisation des échantillons fortifiés.

## VI. Extraction des mycotoxines et analyse de l'aliment et des œufs par UHPLC-MS/MS

Cette étape a été réalisée en Juillet 2022 au niveau du laboratoire de chimie analytique de Grenade, Espagne.

### VI.1. Préparation des échantillons de l'aliment

Nos expériences sur l'aliment ont débuté par la préparation d'un échantillon témoin aux mêmes concentrations que nos échantillons d'aliments, qui sont :

Maïs : 57,2%

Soja : 20%

Son de blé : 10%

En notant que certains additifs, dont un capteur de mycotoxines à base de bentonite, de plusieurs marques comme (Mycosorb, Micofix, Clinot...), ainsi que du CMV (complément vitaminé et

## Chapitre II : Matériel et méthodes

minéral), sont présents dans les échantillons d'aliments récupérés de l'est algérien aux concentrations respectives de 1% et 1,2% (figure 13).

Ainsi, après avoir discuté et comparé deux méthodes d'extraction d'aliment qui sont :

La méthode utilisée par Arroyo-Manzanares et al. (2019).

La méthode utilisée par Mahdjoubi et al. (2020).

La deuxième méthode a été choisie, en raison de son taux de récupération des analytes plus élevé que la première, avec une légère modification sur la durée d'agitation en rallongeant le temps pour assurer une meilleure homogénéisation.

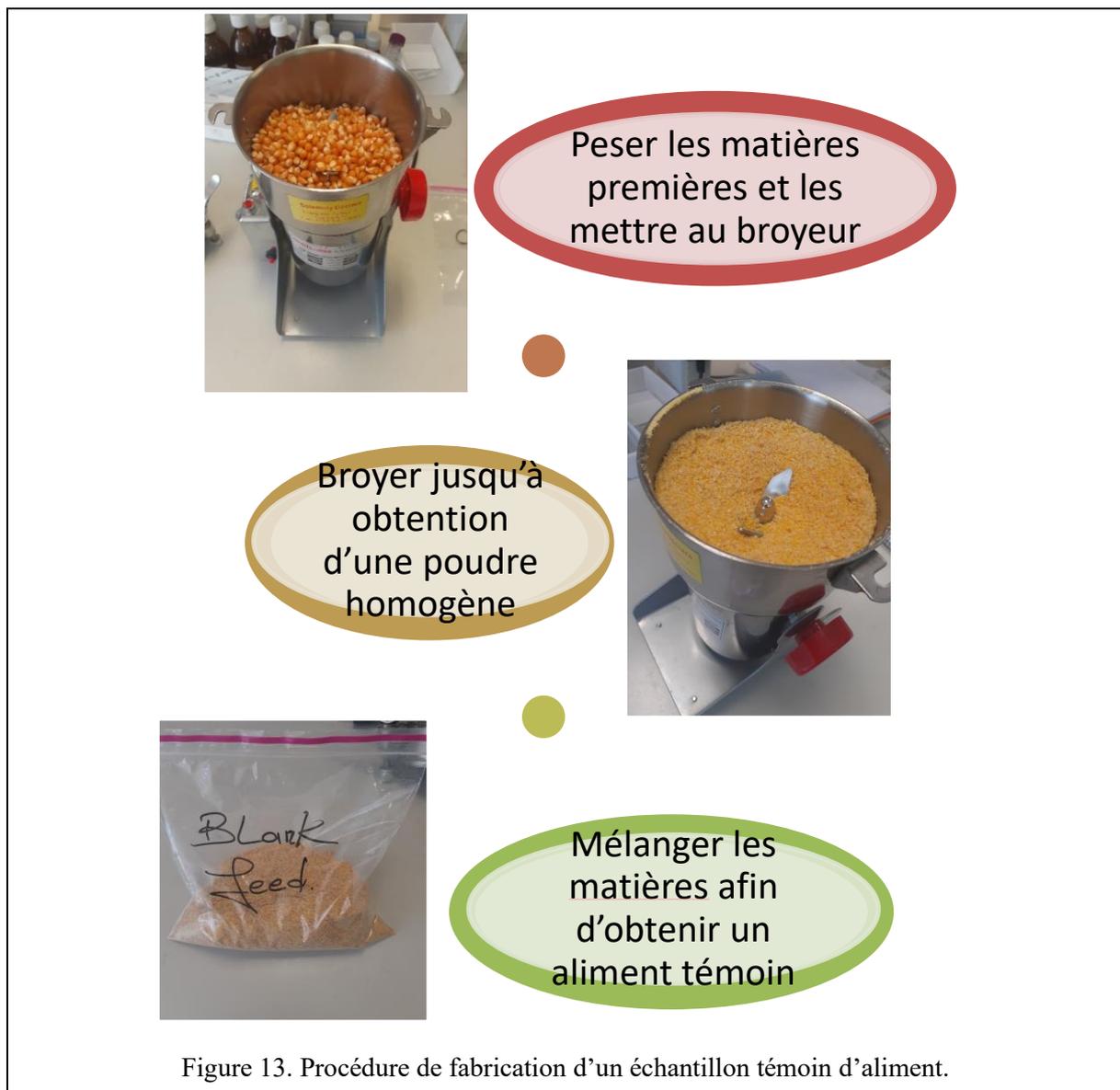


Figure 13. Procédure de fabrication d'un échantillon témoin d'aliment.

### VI.1.1. Procédure d'extraction des mycotoxines dans l'aliment

1. Mettre 2 g d'échantillon broyé dans un tube à centrifuger en polypropylène (50 mL)
2. L'ajout de 8 mL d'eau

## Chapitre II : Matériel et méthodes

3. Vortexer pendant 1 min
4. L'ajout de 10 mL d'acide formique à 5% dans de l'ACN
5. Agitation au vortex pendant 3 min
6. L'ajout de :
  - 4 g de MgSO<sub>4</sub>
  - 1 g de NaCl
  - 1 g de citrate de sodium
  - 0,5 g de citrate dihydrogène de sodium sesquihydraté
7. Agitation vigoureuse pendant 2 min
8. Centrifugation à 4500 rpm (3722 × g) pendant 5 min
9. Transfert de 2 mL de la couche supérieure dans un flacon de 4 mL
10. Évaporation à sec sous un léger flux d'azote
11. Reconstitution à un volume final de 1 mL avec un mélange MeOH:eau (50:50, v/v)
12. Filtration avant injection en UHPLC-MS/MS

Les analyses chromatographiques ont été réalisées en utilisant la phase mobile suivante :

(Phase A) : élution par gradient avec de l'eau et 0,1% d'Acide formique

(Phase B) : MeOH à 100%

Débit : 0,4 mL/min

### VI.2. Préparation des échantillons des œufs

Deux méthodes de traitement des œufs (œufs frais et œufs lyophilisés) ont été utilisées avec quelques modifications afin de choisir la meilleure, qui sont :

1. La méthode utilisée par Zhou et al. (2018).
2. La méthode utilisée par Frenich et al. (2011).

On a opté pour la méthode de Frenich et al. (2011) qui était meilleure par rapport à l'autre traitement, avec la meilleure récupération proche de 100%.

La deuxième chose que l'on peut noter est qu'on a fait une pré-analyse pour confirmer que la lyophilisation n'a pas affecté la présence de mycotoxines. Ceci a été démontré en fortifiant des œufs frais, en les lyophilisant, en les traitant, puis en les analysant.

#### VI.2.1. Procédure d'extraction des mycotoxines dans les oeufs

1. Mettre 2 g d'œufs homogénéisés (0,5 g d'œufs lyophilisés + 1,5 ml d'eau) dans un tube à centrifuger de 50 ml
2. Vortexer pendant 2 min

## Chapitre II : Matériel et méthodes

3. L'ajout de 10 ml d'une solution méthanol/eau (80/20, v/v) avec 1% d'acide acétique
4. Vortexer pendant 30 s
5. L'ajout de :
  - a. 4 g de sulfate de sodium anhydre
  - b. 1 g d'acétate de sodium anhydre
6. Vortexer le mélange pendant 2 min
7. Placer le tube dans un vortex à tubes multiples pendant 30 min à 500 rpm
8. Centrifugation à 5000 x g pendant 5 min
9. Transfert 2 ml du surnageant dans un tube en verre
10. Évaporation sous un léger flux d'azote à 45°C
11. Reconstitution du résidu avec 1 ml de ACN/eau (50/50, v/v)
12. Filtration à travers un filtre en polytétrafluoroéthylène de 0,2 µm.

La figure 14 montre le schéma récapitulatif des procédures d'extraction de l'aliment et des œufs.

## Chapitre II : Matériel et méthodes

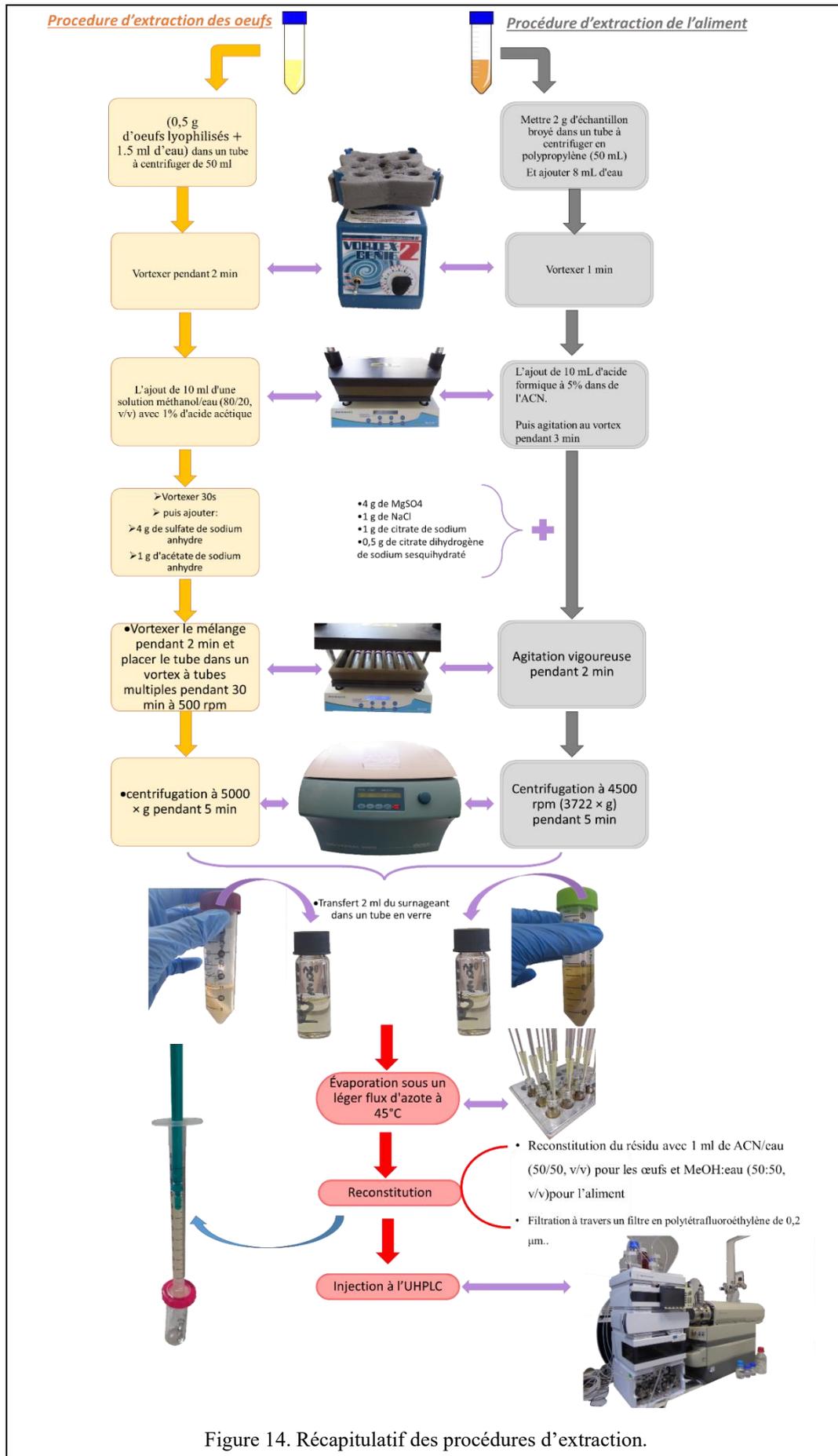


Figure 14. Récapitulatif des procédures d'extraction.

## Chapitre II : Matériel et méthodes

### VI.3. Instrumentation et équipements

Les analyses UHPLC-SM/SM ont été réalisées avec un système Agilent 1290 Infinity LC (Agilent Technologies, Waldbronn, Allemagne) couplé à un spectromètre de masse triple quadripôle API 3200 (AB Sciex, Darmstadt, Allemagne) avec ionisation par électrospray (ESI). La séparation chromatographique a été effectuée avec une colonne Agilent Zorbax Eclipse Plus RRHD C18 (50 x 2,1 mm, 1,8 µm).

Le logiciel Analyst (version 1.6.3, AB Sciex, Darmstadt, Allemagne) a été utilisé pour l'acquisition et l'analyse des données.

Pendant le traitement de l'échantillon, un évaporateur (System EVA-EC, VLM GmbH, Bielefeld, Allemagne), un vortex Genie-2 (Scientific Industries, Bohemia, NY, USA), une centrifugeuse universelle 320R (Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Allemagne), et un agitateur multitube (Benchmixer, Benchmark) ont été utilisés.

### VI.4. Validation des méthodes d'analyses

Les performances de la méthode ont été évaluées en termes de linéarité, d'effet matrice (EM), de rendement d'extraction (RE), de précision, de limite de détection (LOD) et de limite de quantification (LOQ).

La linéarité de la méthode a été évaluée par fortification d'échantillons témoins extraits à six niveaux de concentration différents (c'est-à-dire, 1, 2, 5, 10, 15 et 30 µg/L), analysés en duplicata (réplicats instrumentaux). La détermination des LOD et LOQ a été réalisée en considérant la concentration en analyte donnant un rapport signal/bruit (S/B) de 3 et 10, respectivement.

L'EM peut être estimé en comparant la réponse analytique fournie par les extraits témoins dopés après le traitement de l'échantillon à la réponse résultant d'une solution étalon à la même concentration.

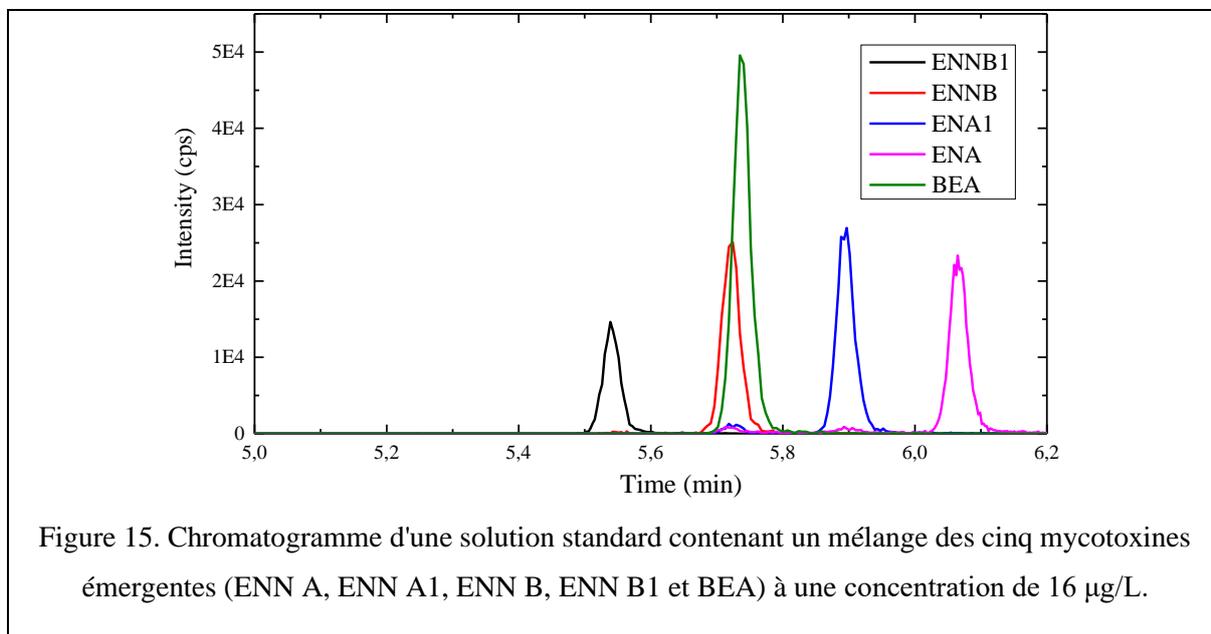
Le RE a été estimé en comparant l'aire du pic d'échantillons dopés avant et après le traitement de l'échantillon pour évaluer les pertes en analytes. Les EM et RE ont été évalués à 50 et 20 µg/kg en traitant des échantillons en triplicata par trois répliques expérimentaux injectés deux fois (n = 6). Le calcul de l'EM et du RE a été établi en utilisant les équations suivantes :

$$RE = \frac{\text{signal d'échantillons dopés avant traitement}}{\text{signal des extets dopés}} * 100$$

## Chapitre II : Matériel et méthodes

$$EM = \frac{(\text{signal des extrets dopés} - \text{signal de la solution standard})}{\text{signal de la solution standard}} * 100$$

La figure 15 montre un chromatogramme d'une solution standard contenant un mélange des cinq mycotoxines émergentes (ENN A, ENN A1, ENN B, ENN B1 et BEA) à une concentration de 16 µg/L.



## VII. Préparation et analyse de l'aliment par le Kit ELISA

L'analyse a été réalisée en Juin 2023 au Centre National de Recherche Biotechnologique de Constantine, en Algérie.

### VII.1. Préparation des échantillons

Le meilleur solvant pour l'extraction de l'OTA à partir de diverses matrices alimentaires est le méthanol (Todescato et al., 2014). Pour chaque échantillon à examiner, la solution d'extraction (méthanol à 70%) a été préparée en mélangeant 175 ml de méthanol à 100% avec 75 ml d'eau distillée. Après cela, 250 ml de solvant d'extraction ont été ajoutés et une portion de l'échantillon pesant 50 g, préalablement broyé à la constance du café moulu et homogénéisé pendant au moins deux minutes, a été mise en suspension. Le rapport échantillon/solvant d'extraction était de 1 :5 (p/v). Après avoir laissé le temps aux particules de sédimenter, 30 ml de l'extrait ont été filtrés en utilisant un papier filtre Whatman n°1. Le filtrat a ensuite été collecté et utilisé pour le dosage immuno-enzymatique.

Les concentrations en OTA ont été déterminées par la technique ELISA sur microplaques. Le kit de dosage ELISA de l'OTA utilisé dans cette étude est un test sur microplaque 96 puits pour le dosage quantitatif de l'*Ochratoxine A* (Bio-Shield B2448/B2496).

## Chapitre II : Matériel et méthodes

Le kit Bio-Shield *Ochratoxine* B2448/B2496 est une méthode immuno-enzymatique qui détermine l'*Ochratoxine* dans les céréales, les épices, les aliments pour animaux, les jus de raisin et d'autres produits. Ce kit ELISA, fabriqué par ProGnosisBiotech S.A., est conforme aux exigences de la norme EN ISO 9001: 2015 et a reçu la certification TUV Hellas (TUV Nord). Ce kit a été choisi en raison de sa grande sensibilité et de la réaction croisée de l'anticorps anti-Ochratoxine A et B qui est de 100% et <0,1% respectivement.

Le taux de récupération des matrices dopées était de 100,3% avec un coefficient de variation de 8,1%, et les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) de la méthode sont de 0,5 ng/g et 1,5 ng/g, respectivement.

### VII.2. Analyse des échantillons

Des tests en duplicata ont été réalisés sur chaque échantillon et standard.

Premièrement, 200 µl de la matrice de dilution ont été ajoutés à chaque puits de dilution, puis, en utilisant une nouvelle pointe de pipette pour chaque, 50 µl de chaque standard, Standards (1-6) ; 0 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 4 et 8 ng/g d'OTA, respectivement et 50 µl des échantillons préparés ont été ajoutés en duplicata aux puits de dilution appropriés contenant la matrice de dilution. Ils ont été mélangés par pipetage cinq fois. 100 µl du contenu de chaque puits de dilution ont été transférés à l'aide d'une multipipette dans les puits de microtitration associés revêtus d'anticorps. Le film protecteur a été placé sur les micropuits, et ils ont été laissés à température ambiante pendant 10 minutes. Dans cette phase, la solution de travail de 1000 ml pour le tampon de lavage a été préparée en diluant la solution concentrée de 50 ml avec de l'eau distillée.

Après avoir retiré la feuille de protection, la plaque a été lavée trois fois avec 300 µl de tampon de lavage pour chaque lavage en utilisant un laveur automatique (Thermo Scientific Wellwash Versa). Après avoir ajouté 100 µl de solution de détection, la plaque a été incubée pendant 5 minutes à l'obscurité sous agitation, puis lavée une seconde fois après retrait du film protecteur. Le substrat de tétraméthylbenzidine (TMB) a été ajouté à chaque puits à raison de 100 µl. Les micropuits ont ensuite été scellés avec le film protecteur et laissés à température ambiante dans l'obscurité pendant 5 min pour permettre à l'enzyme de réagir avec son substrat et, par conséquent, au développement de la couleur. En guise d'étape finale, la plaque a été délicatement agitée manuellement avant d'ajouter 100 µl de solution d'arrêt dans chaque puits, et lecture à l'aide d'un lecteur de microplaques (Perkin Elmer Enspire 2300 Multi-mode Microplate Reader) (figure 16).

## Chapitre II : Matériel et méthodes

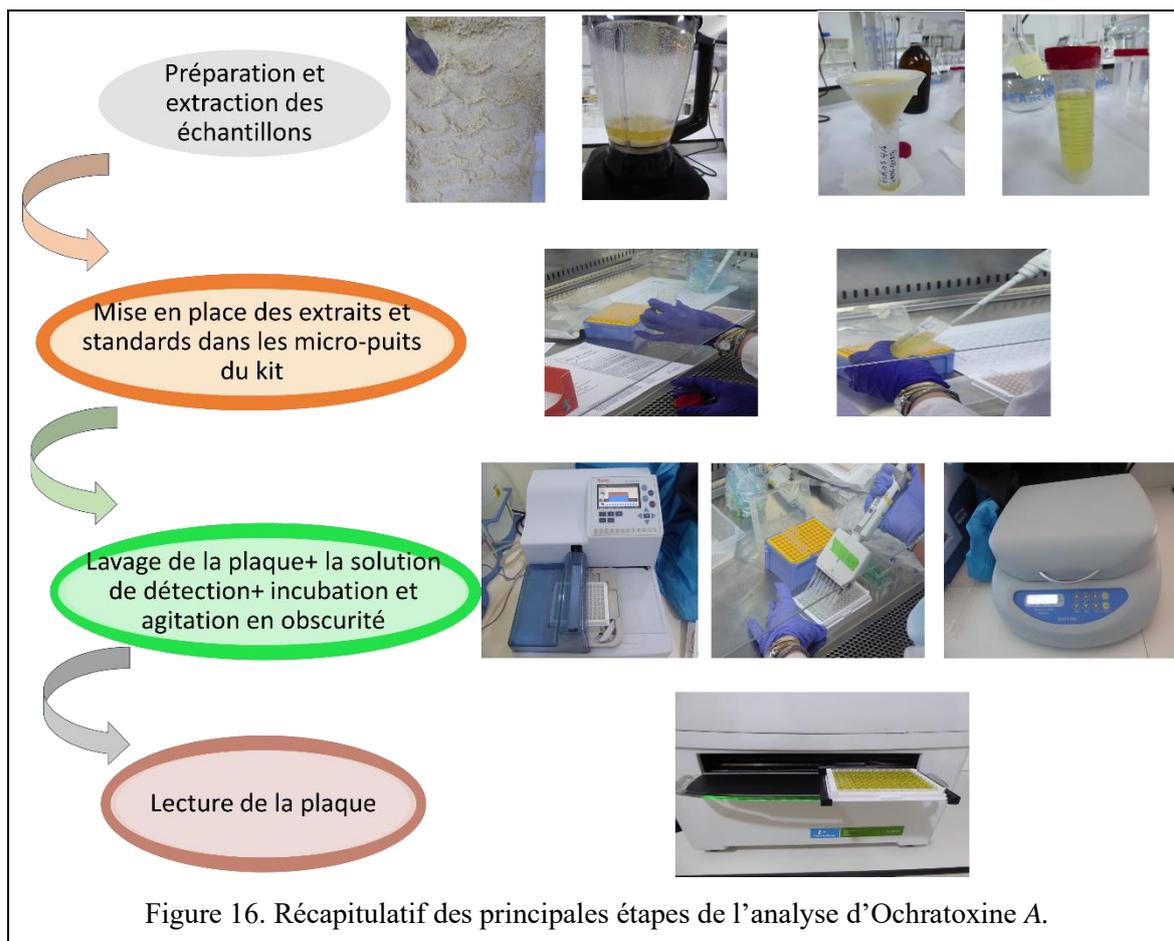


Figure 16. Récapitulatif des principales étapes de l'analyse d'Ochratoxine A.

# Chapitre III : Résultats et discussion

### I. Résultats de l'enquête

Un nombre de 42 questionnaires remplis et étudiés statistiquement, ont permis de recueillir un bon nombre d'informations qui peuvent aider à mieux comprendre la situation du secteur avicole et plus précisément l'élevage de poules pondeuses dans l'Est algérien.

#### I.1. Identification des exploitations

Il faut noter que toutes les exploitations sont privées, réparties comme suit : 14 exploitations dans la wilaya de Batna, 5 dans la wilaya de Sétif, 4 dans la wilaya de Constantine, 1 dans la wilaya de Mila, 7 dans la wilaya de Guelma, 1 dans la wilaya d'Annaba, 5 dans la wilaya d'Oum El Bouaghi, et 5 dans la wilaya de Biskra.

##### I.1.1. Capacité des exploitations (Bâtiments pleins)

L'étude a montré que plus de la moitié des exploitations avicoles observées n'ont qu'un seul bâtiment de production. Ceci s'explique par le fait que plusieurs d'entre elles avaient initialement plus d'un bâtiment, mais ont dû réduire leur production à cause du coût élevé de l'alimentation et de la propagation de la maladie grippe aviaire H5N1 pendant la période d'étude. Sept exploitations ont deux bâtiments, tandis que les autres sont considérées comme des complexes avicoles pouvant comporter jusqu'à 7 bâtiments (figure 17).

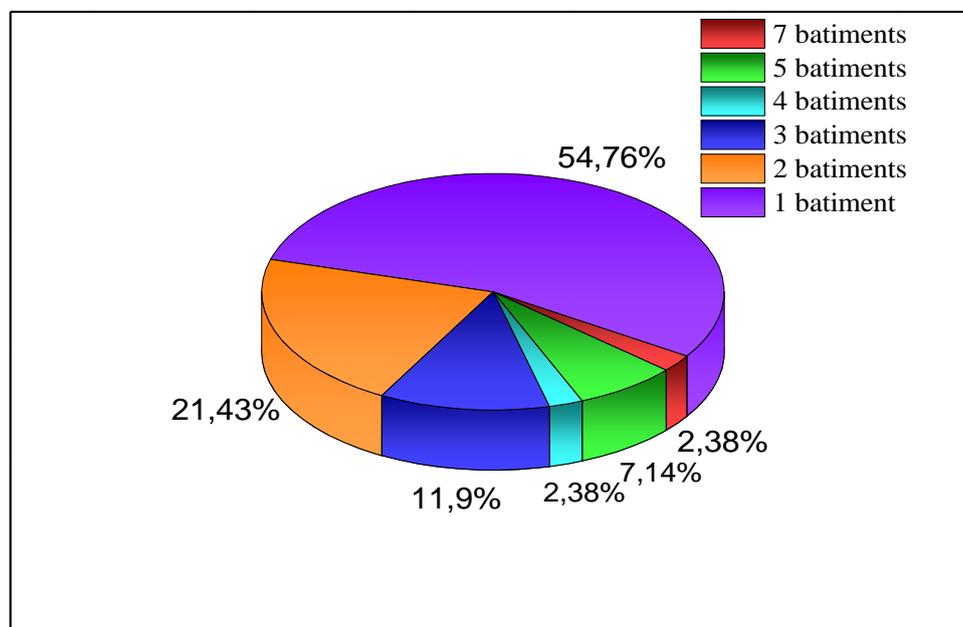


Figure 17. Nombre de bâtiments par exploitation.

##### I.1.2. Mode d'élevage

L'étude montre que 95,2% des exploitations avicoles observées utilisent un élevage en batterie, tandis que seulement 4,8% ont recours à un élevage au sol. Ceci démontre la prédominance

quasi totale de l'élevage en batterie dans la région étudiée. Les exploitations au sol observées sont de petite taille et correspondent à une production locale traditionnelle destinée aux marchés de proximité. Leur faible proportion montre que ce modèle artisanal est marginalisé par l'élevage industriel en batterie (figure 18).

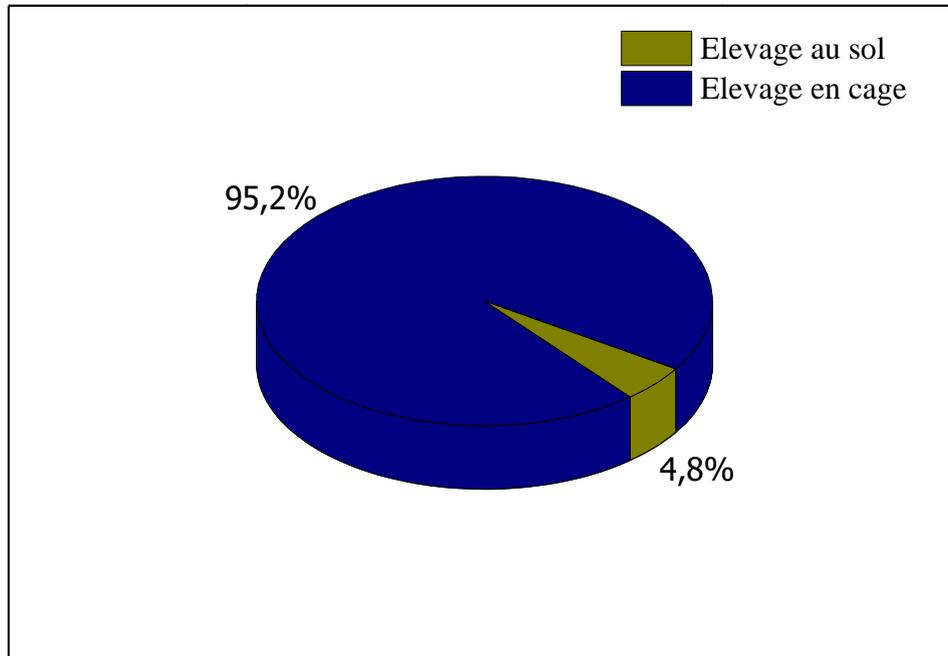


Figure 18. Le mode d'élevage.

## I.2. Caractéristiques du cheptel

### I.2.1. La provenance des poules

L'étude révèle que parmi les élevages de poules pondeuses observés, plus de 60% utilisent des souches de poules produites localement, tandis que 26% importent les souches utilisées et 11% travaillent avec des souches mixtes, parfois locales et parfois importées (figure 19).

Cela démontre que la majorité des élevages s'approvisionnent en souches de poules pondeuses auprès de couvoirs locaux, ce qui présente probablement des avantages logistiques et économiques. Cependant, plus d'un tiers des élevages ont tout de même recours à l'importation de souches, en totalité ou en partie, ce qui reflète le besoin d'approvisionnement à l'étranger pour accéder à certains types de souches jugées plus performantes ou mieux adaptées aux conditions locales.

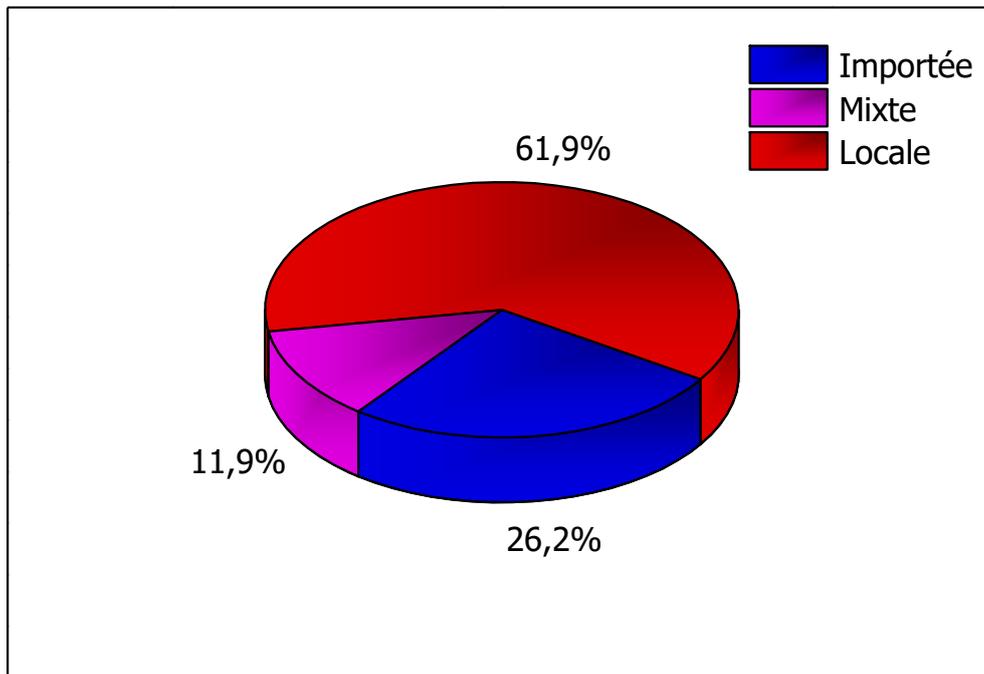


Figure 19. La provenance des poules.

### I.2.2. La souche exploitée

L'étude montre que la majorité des élevages de poules pondeuses utilisent la souche Isa Brown. Les souches Isa White et Lohmann représentent chacune 13% des souches exploitées. D'autres souches comme Cobb 500, Hubbard F15, Novogen Brown et Tetra SL sont également présentes mais de manière moins importante (figure 20).

On constate donc la prédominance de la souche Isa Brown, qui semble être la souche de référence dans la région. Cependant, on note aussi une diversification avec l'utilisation minoritaire mais significative d'autres souches telles que Isa White et Lohmann. Cette diversité permet probablement aux éleveurs de choisir des souches adaptées à leurs conditions d'élevage et objectifs de production. Elle reflète aussi l'offre des couvoirs fournisseurs de la région.

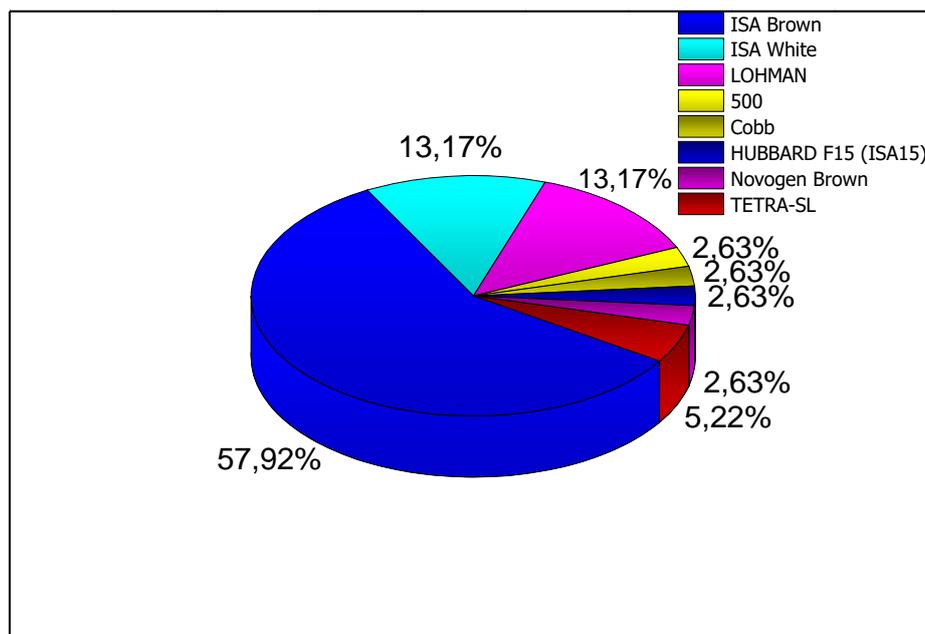


Figure 20. Les souches de poules exploitées dans la zone d'étude.

### I.3. Conduite sanitaire

Les protocoles de vaccination complets contre la maladie de Marek et Gumboro sont respectés dans toutes les exploitations agricoles, car ce sont des vaccins de base essentiels pour les volailles. Cependant, le reste du protocole vaccinal recommandé n'est suivi que dans les très grandes exploitations, qui ont même introduit les vaccins contre H5N1 et d'autres vaccins vectorisés (figure 21). En revanche, seules quelques rares fermes, probablement les plus petites, effectuent régulièrement des analyses complémentaires comme les titrages d'anticorps, la recherche de salmonelles et de mycoplasmes. Ces analyses sont coûteuses et complexes à mettre en place, et ne sont donc réalisées que par une minorité d'exploitations avicoles (figure 22).

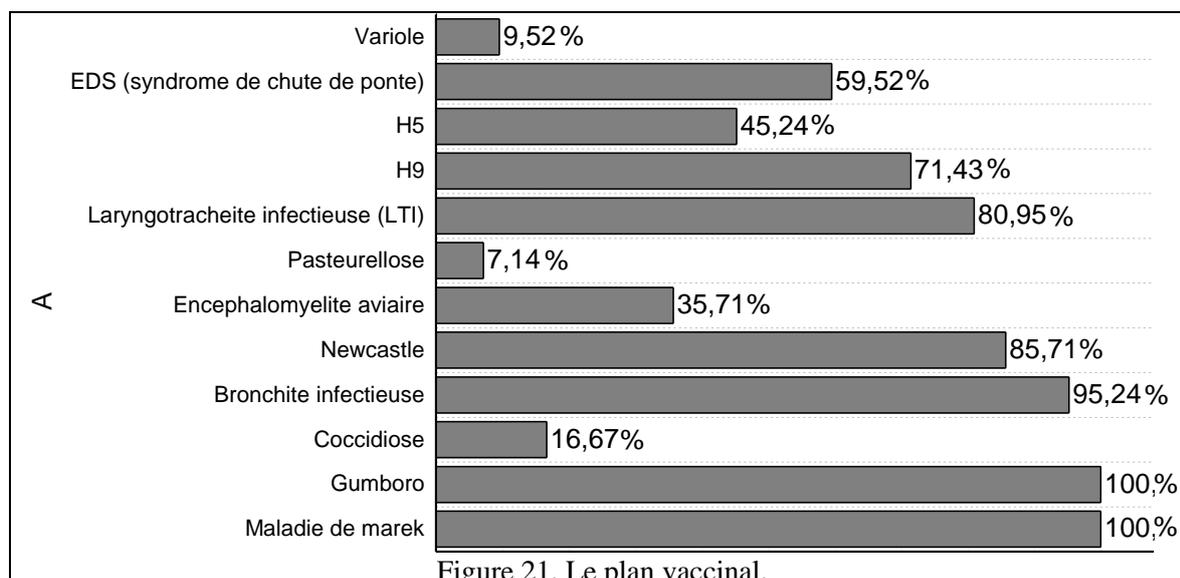
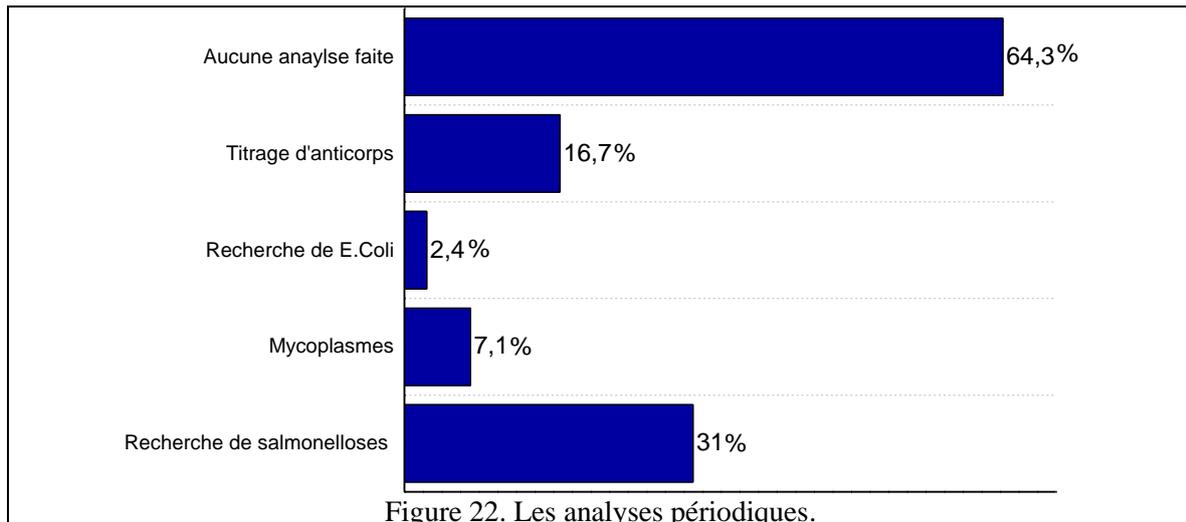


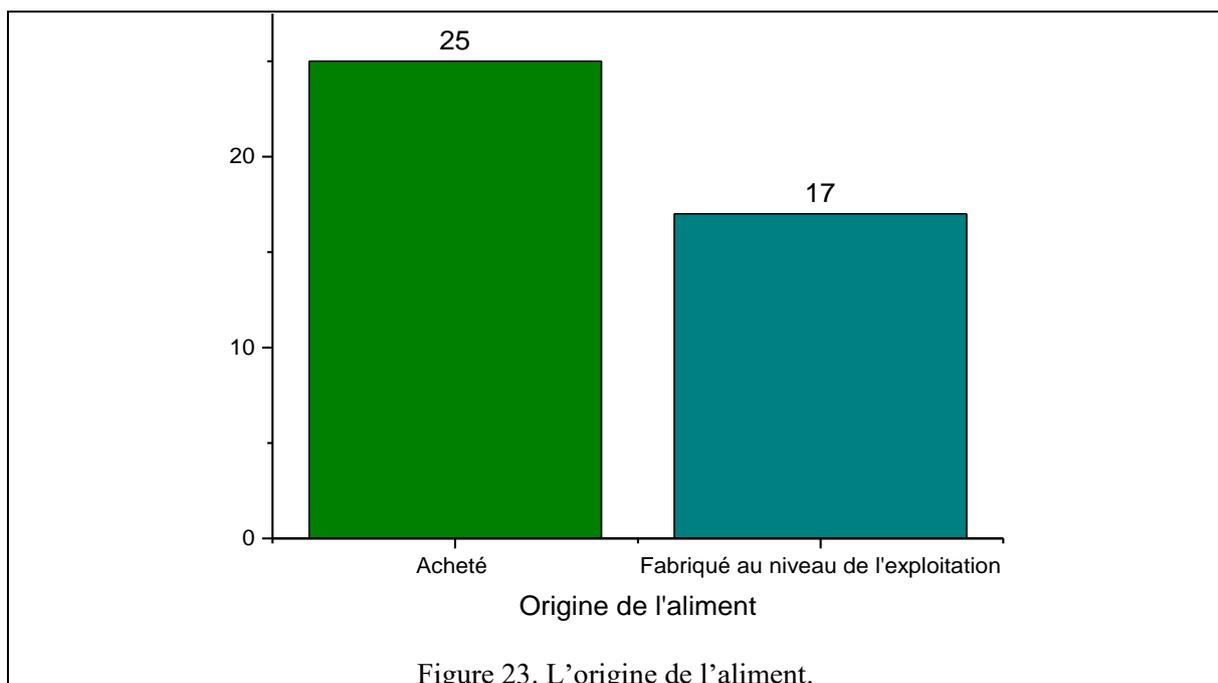
Figure 21. Le plan vaccinal.



### I.4. Alimentation des poules

#### I.4.1. Origine de l'aliment

L'aliment destiné aux poules est acheté tout prêt par 25 exploitations. En revanche, 17 exploitations fabriquent elles-mêmes l'aliment directement au niveau de leur ferme (figure 23). On peut en déduire que la majorité des exploitations (25 sur 42) préfèrent acheter l'aliment déjà formulé et prêt à l'emploi plutôt que de le préparer elles-mêmes, probablement par manque de temps, d'équipements ou de connaissances en formulation alimentaire. Seules 17 exploitations sur 42 ont choisi de fabriquer l'aliment sur place, soit pour des raisons économiques, soit pour contrôler parfaitement la composition de l'aliment donné aux poules.



### I.4.1.1. Aliment acheté

Parmi les exploitations qui achètent l'aliment fini, la majorité le stockent en petites quantités tandis qu'une minorité seulement le stockent en grandes quantités (figure 24).

Concernant la présence de capteurs de mycotoxines dans l'aliment, le tiers des exploitations savent que l'aliment en contient, un tiers disent que non, et pour le reste l'information semble manquer (ne savent pas s'il y en a ou non) (figure 25).

Donc on peut dire que la plupart des exploitations stockent fréquemment de petites quantités d'aliment, et que l'information sur la présence de capteurs de mycotoxines n'est pas clairement connue d'une majorité d'entre elles. Seule une minorité semble confirmée que l'aliment contient bien ces capteurs.

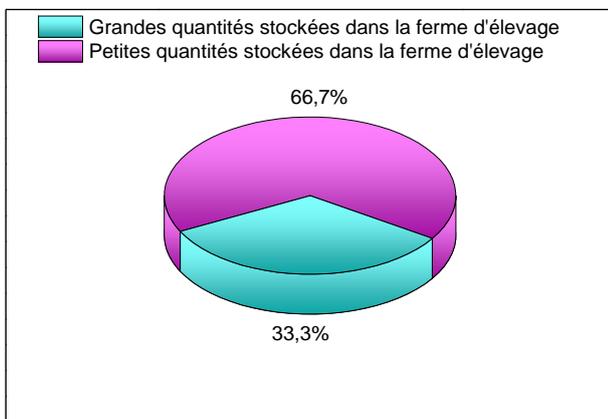


Figure 24. Les quantités d'aliment acheté.

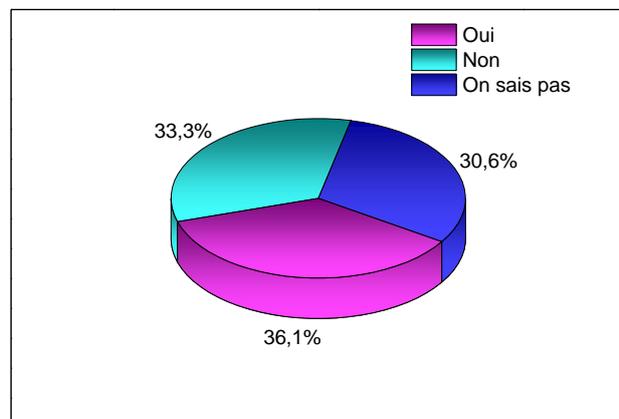


Figure 25. La présence de capteurs de mycotoxines.

### I.4.1.2. Aliment produit au niveau de l'exploitation

Les matières premières utilisées par les éleveurs pour fabriquer eux-mêmes l'aliment sont : du maïs, du tourteau de soja, du son de blé, de l'huile de soja, du CMV (concentré minéral et vitaminé), du calcaire et du phosphate.

La recette utilisée est la suivante :

- Environ 57% du mélange est composé de maïs
- 20% de tourteau de soja
- 20% de son de blé
- 1% environ de calcaire et autres additifs comme le CMV, le phosphate, etc.

On peut donc dire que la matière première principale utilisée pour préparer l'aliment est le maïs, qui représente plus de la moitié du mélange. Le tourteau de soja et le son de blé viennent ensuite en parts égales d'environ 20% chacun. Les compléments minéraux ne représentent qu'une très faible proportion dans la recette.

## Résultats et discussion

---

Parmi les éleveurs qui fabriquent eux-mêmes l'aliment, la majorité (environ 60%) reconnaissent y ajouter des capteurs de mycotoxines. Les quantités ajoutées varient selon les éleveurs (figure 26) :

- Certains ajoutent entre 1 et 2 kg de capteurs pour 10 tonnes d'aliment.
- D'autres mettent 1 kg de capteurs pour 5 tonnes d'aliment.
- Et quelques-uns ajoutent 1 kg de capteurs par tonne d'aliment.

On constate donc que les doses de capteurs mycotoxiques ajoutées sont variables d'un éleveur à l'autre. Elles vont de 1 kg pour 10 tonnes (0,1%) à 1 kg par tonne (0,1%). Mais dans tous les cas, la majorité des éleveurs fabriquant eux-mêmes l'aliment reconnaissent incorporer ces capteurs, contrairement à ceux qui achètent l'aliment tout prêt.

Les marques de capteurs de mycotoxines utilisées par les éleveurs sont diverses. Les principales marques citées sont :

- Paratox
- Aviator
- Freetox
- Toximix
- Atofirst
- Micofix
- Turbotox
- Toxi-veto
- Clino+ (BVH) Savana
- Elitox
- Mico-tech
- Acidal NC
- Klinofeed

On constate donc une grande variété de marques de capteurs mycotoxiques employées. Ceci s'explique probablement par le fait que chaque éleveur choisit sa propre marque en fonction du fournisseur, du prix ou de la composition. Mais dans l'ensemble, l'ajout de ces capteurs issus de différentes marques semble être une pratique courante parmi les éleveurs fabriquant eux-mêmes l'alimentation de leurs poules.

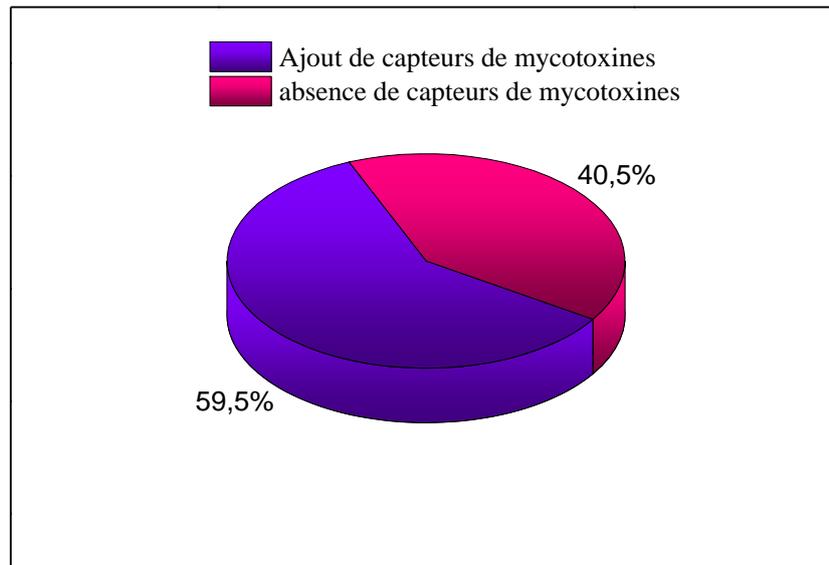


Figure 26. La présence de capteurs dans l'aliment fabriqué.

### I.4.2. Mode de stockage

Concernant le mode de stockage de l'aliment dans les élevages, la très grande majorité des éleveurs (66,6%) utilisent des sacs en plastique pour entreposer l'aliment. Un peu plus d'un quart (28,6%) dispose de silos, qui représentent un mode de stockage plus conséquent. Et une très faible proportion (4,8%) conserve l'aliment dans des emballages en papier, qui sont moins étanches et résistants (figure 27).

Le stockage en sacs plastiques semble donc être le mode de conservation dominant pour l'alimentation des poules dans ces élevages.

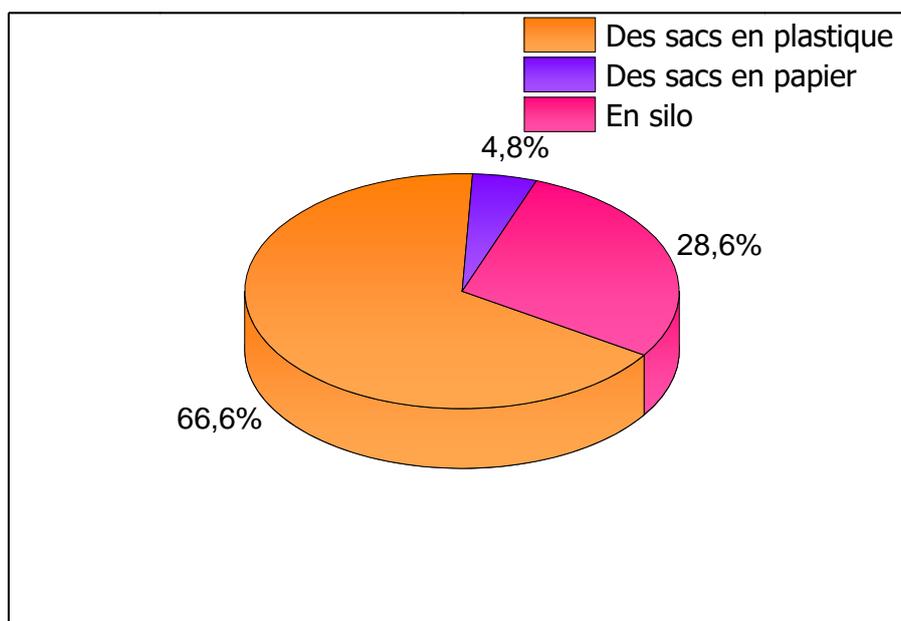


Figure 27. Le mode de stockage de l'aliment.

### I.4.3. Temps de stockage

En ce qui concerne la durée de stockage de l'aliment dans les élevages, On constate donc que la grande majorité (plus des 3/4) utilisent l'aliment dans les 15 jours suivant sa réception ou fabrication. Une minorité (environ 1/6) le stocke un mois. Et une très faible proportion conserve l'aliment plus de 3 mois (figure 28). Ces données montrent que la plupart des éleveurs privilégient une rotation rapide de leur stock d'aliment, avec des délais de conservation courts, probablement pour préserver la fraîcheur et les qualités nutritionnelles. Seul un petit nombre le conserve plus longtemps.

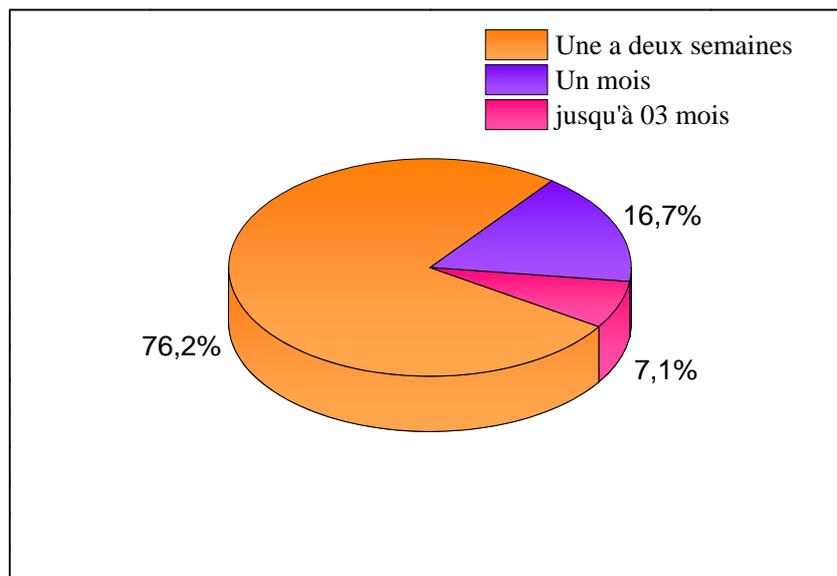


Figure 28. Le temps de stockage de l'aliment.

### I.4.4. Mode de distribution de l'aliment

Concernant le mode de distribution de l'aliment dans les élevages, On constate donc qu'une petite majorité d'élevages (38%) emploient un système semi-automatique pour distribuer l'aliment aux poules, ce qui nécessite encore une intervention humaine (figure 29).

Près d'un tiers des élevages disposent d'un système automatisé pour délivrer l'aliment, ne nécessitant pas d'intervention humaine. Et environ un tiers des élevages utilisent encore une méthode de distribution manuelle, principalement les plus petites exploitations.

La tendance semble donc s'orienter doucement vers une automatisation croissante de la distribution de l'aliment dans les élevages avicoles.

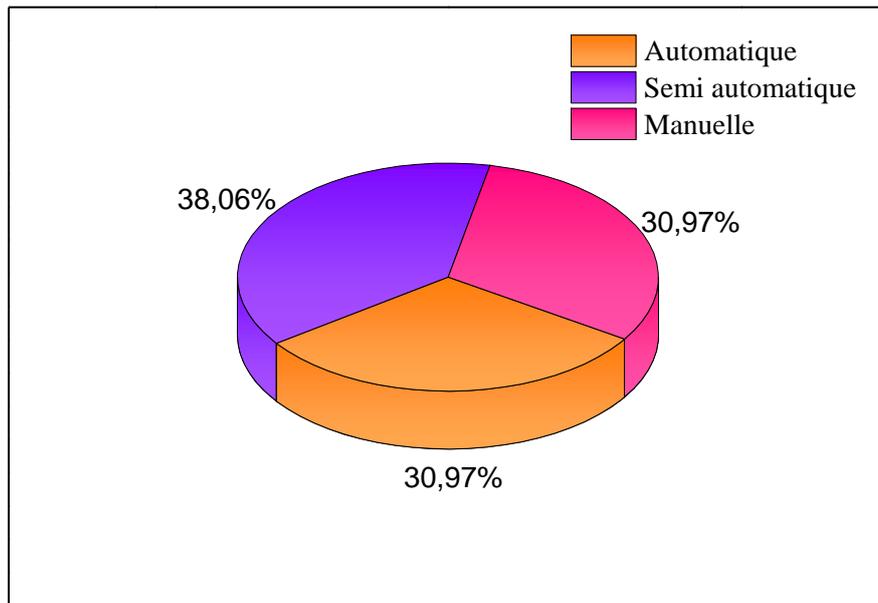


Figure 29. Le mode de distribution de l'aliment.

### I.5. Conduite des éleveurs envers certains paramètres liés à l'aliment

D'après cette enquête, il apparaît que 70% des éleveurs connaissent le terme "mycotoxines", tandis que les 30% restants n'ont pas vraiment d'idée sur ce que c'est.

Par ailleurs, près de 86% des éleveurs déclarent procéder à la désinsectisation dans les lieux de stockage de l'aliment pour poules. Cependant, moins de la moitié déclarent véritablement maîtriser les paramètres de température et d'humidité qui permettent de prévenir le développement de ces mycotoxines.

La totalité des éleveurs déclarent vérifier l'aliment s'il est contaminé par les moisissures à l'œil nu au moment du stockage, en revanche, la vérification de l'humidité est peu répandue contrairement à la recherche d'insectes nuisibles, effectuée par la plupart des éleveurs (figure 30, 31,32).

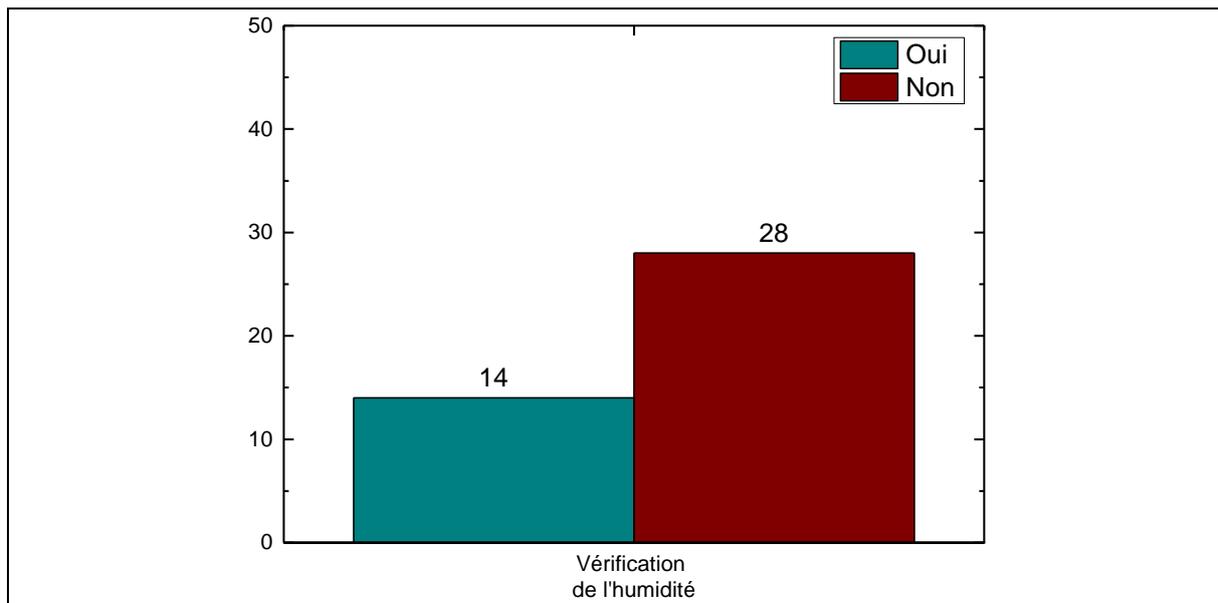


Figure 30. Vérification de l'humidité de l'aliment au moment du stockage.

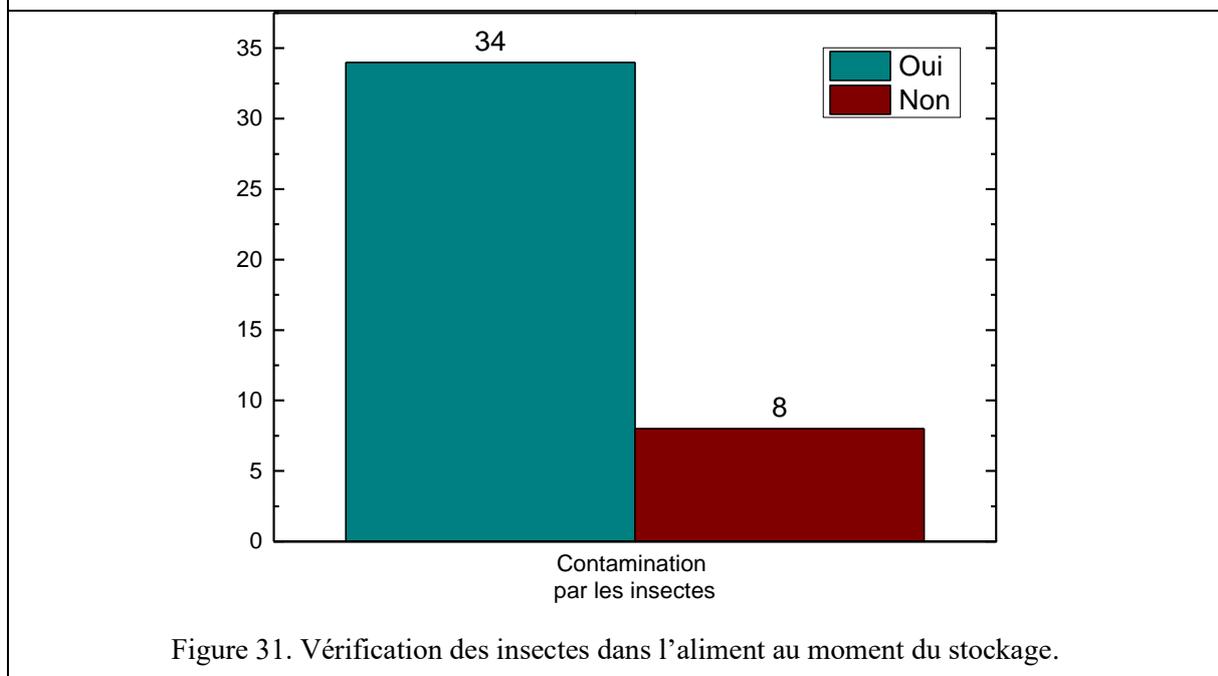
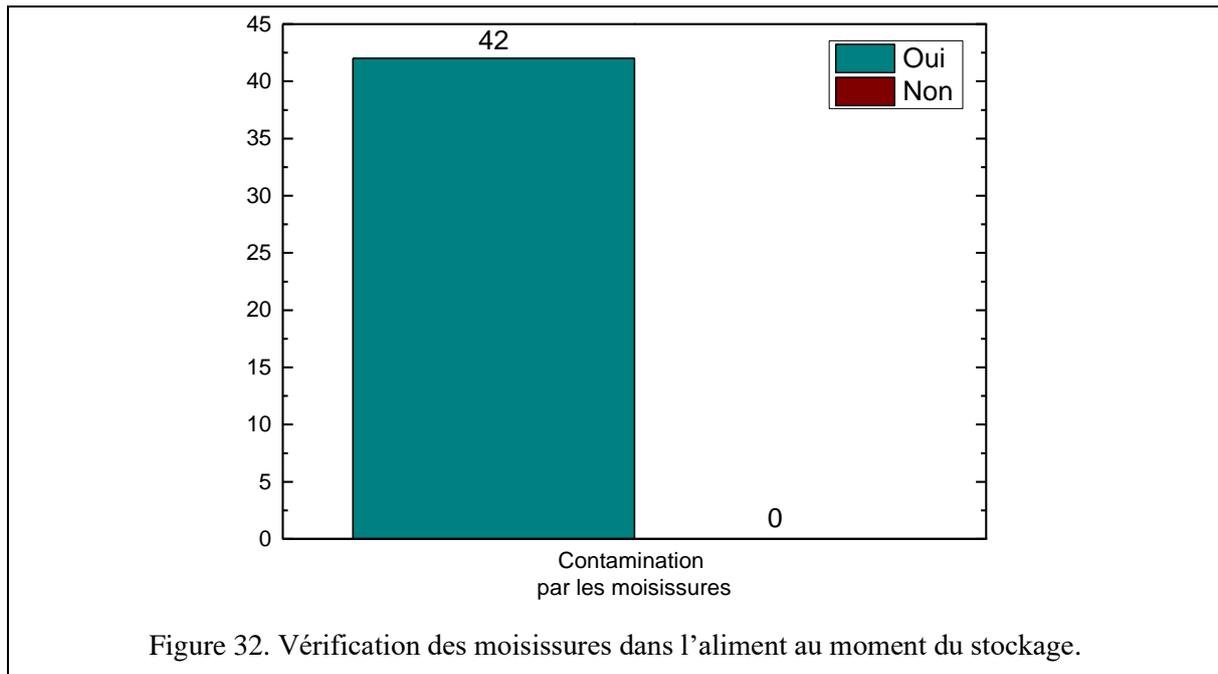


Figure 31. Vérification des insectes dans l'aliment au moment du stockage.



Lorsque l'aliment s'avère moisi près de 80% des éleveurs qui achètent l'aliment le renvoient aux fournisseurs, le reste, ont recours à la destruction du lot, sachant que 89% déclarent avoir connu des cas où l'aliment était contaminé par les moisissures.

65% des éleveurs pensent que la création d'une association qui participe avec les entreprises du secteur à la surveillance analytiques des mycotoxines comme une très bonne idée, les autres la voient comme une idée difficile à réaliser. Cependant ils déclarent qu'ils n'ont pas une réglementation nationale concernant les mycotoxines à suivre.

Vers 2010, des vétérinaires ont constaté dans certains élevages des problèmes de coquilles molles, chutes de ponte et mortalité, sans que les causes soient identifiées. Après cette période, ils ont commencé à avoir recours à l'utilisation de bentonite dans l'alimentation des poules. La bentonite permet de limiter l'absorption de mycotoxines. Cependant, comme la bentonite présente des effets antinutritionnels, ils ont progressivement introduit l'incorporation de capteurs de mycotoxines dans l'alimentation, en remplacement ou en complément de la bentonite. Ces capteurs permettent de piéger les mycotoxines dans le tube digestif des poules et de les éliminer, sans les inconvénients nutritionnels de la bentonite.

On peut donc supposer que les problèmes inexplicables rencontrés vers 2010 étaient probablement liés à la présence de mycotoxines, d'où le recours ultérieur aux capteurs comme solution plus adaptée pour lutter contre ce risque toxique.

### II. Etude mycologique

L'étude de la flore fongique présente dans les aliments a révélé que : Le genre *Penicillium* était présent dans près de la moitié des échantillons analysés. Le genre *Aspergillus* était retrouvé dans un quart des isolats. D'autres genres fongiques comme *Fusarium*, *Mucor* et *Rhizopus* ont été identifiés mais selon des proportions moindres (figure 34).

On constate donc que les moisissures des genres *Penicillium* et *Aspergillus* dominent largement la flore fongique des aliments, représentant ensemble environ 75% des isolats.

Ces deux genres sont connus pour leur capacité à produire un grand nombre de mycotoxines différentes. Leur présence élevée dans les aliments analysés laisse supposer un risque important de contamination par des mycotoxines.

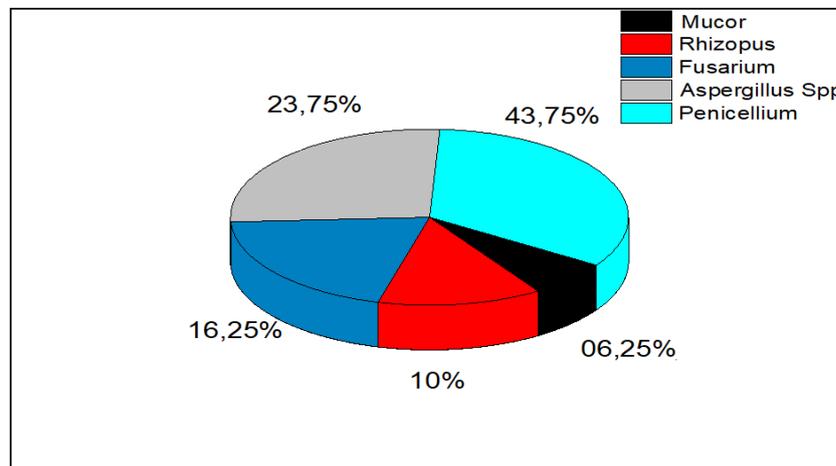


Figure 33. L'occurrence des genres fongiques dans les échantillons d'aliment étudiés.

L'étude morphologique macro et microscopique des colonies de *Penicillium* observées présentaient classiquement un mycélium duveteux de couleur vert-bleuâtre avec une structure filamenteuse segmentée. Les isolats du genre *Aspergillus* étaient caractérisés par des colonies pulvérulentes de couleur variable selon l'espèce, principalement un vert vif, avec un mycélium composé de filaments septés et de conidiophores se terminant en vésicule portant les spores.

Les colonies du genre *Fusarium* se distinguaient par un mycélium cotonneux de couleur blanche, rose ou violacée, composé d'hyphes cloisonnées. Des macroconidies fusiformes caractéristiques étaient observées.

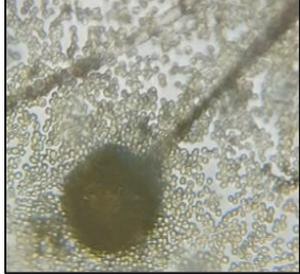
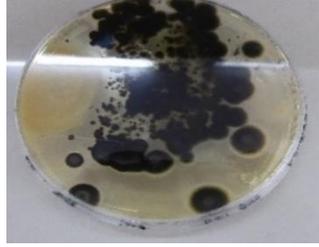
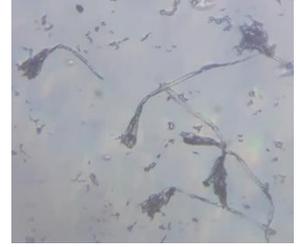
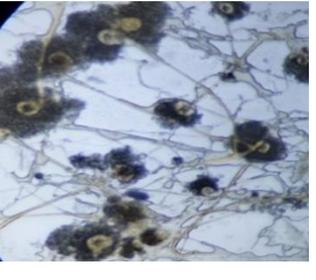
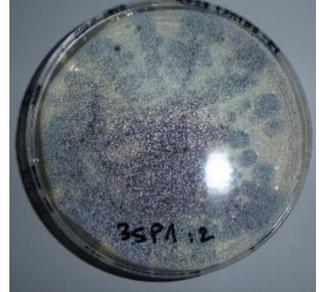
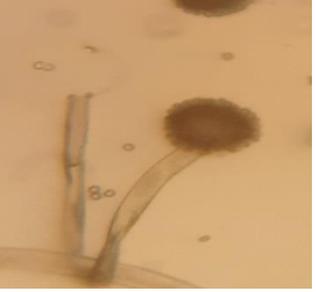
Le genre *Mucor* était reconnaissable à ses colonies filamenteuses de grande taille, avec des hyphes non cloisonnés et la présence de rhizoïdes. Les spores étaient regroupées en sporanges sphériques portés au bout des sporangiophores.

Quant au genre *Rhizopus*, ses colonies blanches à grises étaient constituées d'hyphes larges non cloisonnés avec de nombreux stolons. Les sporanges noirs sphériques contenant les spores

## Résultats et discussion

étaient portés à l'extrémité de sporangiophores dressés (tableau 3).

Tableau 3. Les aspects macroscopiques et microscopiques des genres présents dans les échantillons d'aliments

Le genre	Aspect macroscopique		Aspect microscopique
<i>Aspergillus</i>			
<i>Penicillium</i>			
<i>Fusarium</i>			
<i>Rhizopus</i>			
<i>Mucor</i>			

### III. Validation des méthodes d'extraction des mycotoxines

#### III.1. Validation de l'extraction de l'aliment

Afin de calculer la récupération et l'effet matrice, l'échantillon blanc a été dopé trois fois en ajoutant avant traitement de l'échantillon 500µl du mélange étalon (0,2 ppm pour ENNB1, ENNB, BEA, et ENA1 ; et 0,1 ppm pour ENA), puis les extraits secs ont été reconstitués avec 1ml de solvant (400µl MeOH, 100µl étalon, et 500µl H<sub>2</sub>O).

##### III.1.1. Récupération

Les résultats de la récupération sont démontrés dans le tableau 4.

Tableau 4. Les résultats de la récupération de la méthode utilisée.

	Récupération (%)	STD (n = 3)
ENNB1	100,9	1,4
ENNB	102,7	2,0
BEA	87,6	3,2
ENA1	96,9	2,6
ENA	97,3	1,5

##### III.1.2. Effet de matrice

Une suppression d'ions a été observée, une calibration en présence de matrice était donc nécessaire pour la quantification (tableau 5).

Tableau 5. Les résultats de l'effet de matrice de la méthode utilisée.

	EM (%)	STD (n = 3)
ENNB1	-19,6	3,7
ENNB	-24,2	13,0
BEA	-47,1	3,7
ENA1	-23,0	10,6
ENA	-31,4	9,8

##### III.1.3. Linéarité

En dopant un échantillon blanc à cinq niveaux de concentration (1, 2, 5, 10, 15 et 30 µg/kg) et en le traitant en double, la linéarité de la méthode a été évaluée. Toutes les courbes d'étalonnage ont démontré une bonne linéarité, avec des valeurs de coefficient R<sup>2</sup> nettement supérieures à 0,99 (figure 35).

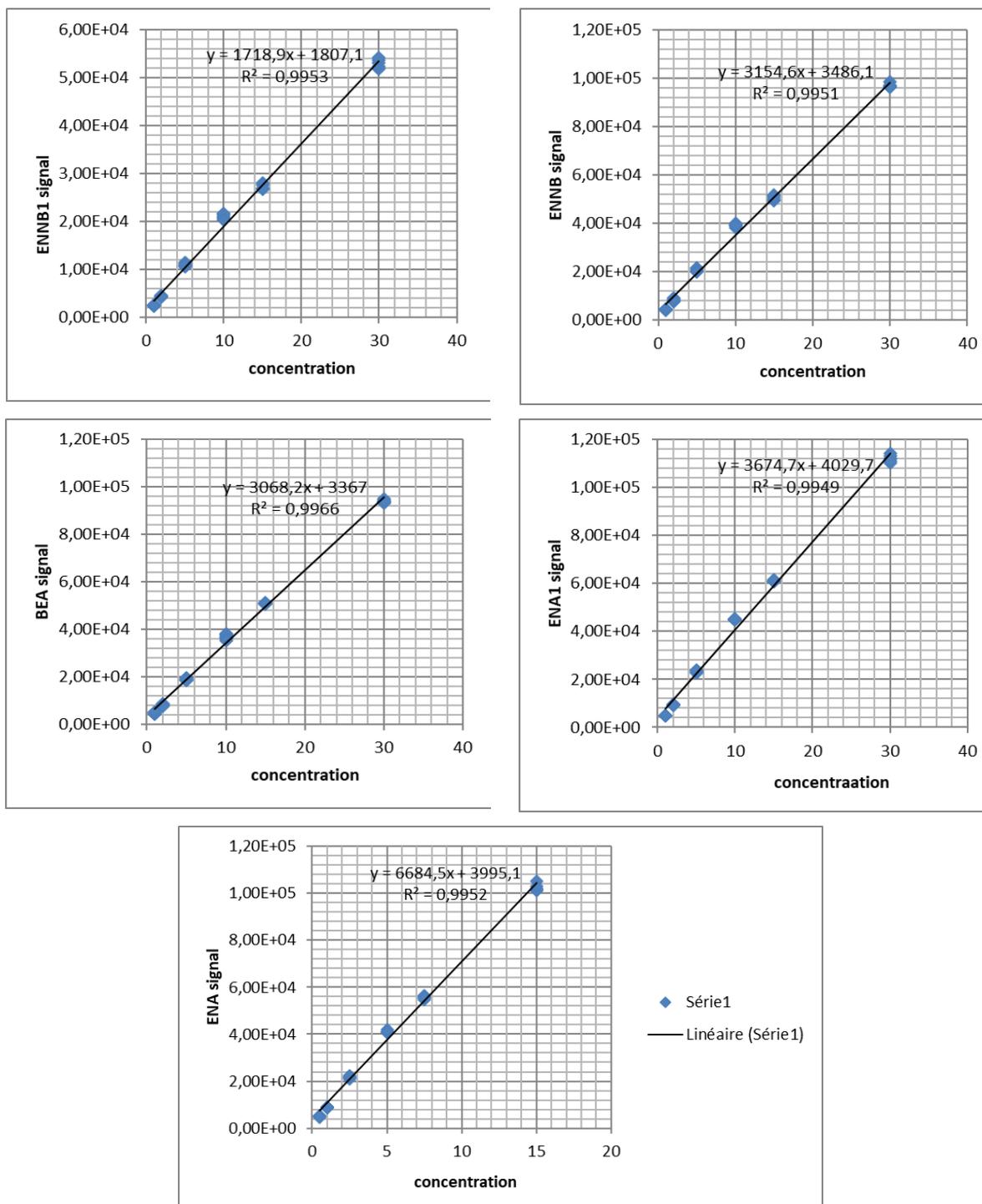


Figure 34. Les courbes de linéarité de la méthode d'extraction des mycotoxines.

### III.1.4. LOD et LOQ

Le calcul d'équations suivantes a permis de déterminer les LOD et LOQ à la concentration en analyte donnant un rapport signal sur bruit de 3 et 10, respectivement : (les résultats sont divisés par 0,4 qui est le facteur de dilution), la plus faible concentration de la courbe a été utilisée, qui est de 1 µg/kg (tableau 6) :

## Résultats et discussion

$$LOQ = \frac{\text{hauteur du pic de bruit} * 10 * \text{[en } \mu\text{g/kg]}}{\text{signal de l'étalon fortifié avant traitement}}$$

$$LOD = \frac{\text{hauteur du pic de bruit} * 03 * \text{[en } \mu\text{g/kg]}}{\text{signal de l'étalon fortifié avant traitement}}$$

Tableau 6. Les résultats des limites de détection et de quantification de la méthode utilisée.

	LOD( $\mu\text{g/kg}$ )	LOQ( $\mu\text{g/kg}$ )
ENNB1	0,3	1,1
ENNB	0,1	0,4
BEA	0,2	0,8
ENA1	0,2	0,6
ENA	0,3	1,0

### III.2. Validation de l'extraction des œufs

Les mêmes étapes de validation de la méthode d'extraction des mycotoxines appliquée précédemment à des échantillons d'aliments ont été suivies pour valider l'extraction à partir d'échantillons d'œufs. Sachant que toutes les courbes d'étalonnage ont montré une bonne linéarité, avec des coefficients de détermination ( $R^2$ ) supérieurs à 0,99.

Les résultats de cette validation de la méthode sur les œufs sont résumés dans le tableau 7.

Tableau 7. Les résultats obtenus par la méthode utilisée.

	RE (%)	EM (%)	LOQ ( $\mu\text{g/kg}$ )	LOD ( $\mu\text{g/kg}$ )
ENN B <sub>1</sub>	102,5	-69,6	0,6	0,2
	STD (%) (n = 3)			
	8,2	11,3		
ENNB	107,5	-72,0	0,44	0,1
	STD (%) (n = 3)			
	6,8	9,1		
BEA	106,4	-74,2	0,3	0,1
	STD (%) (n = 3)			
	5,4	8,6		
ENN A <sub>1</sub>	91,8	-75,0	0,3	0,1
	STD (%) (n = 3)			
	5,0	9,2		
ENNA	101,0	-86,3	0,8	0,2
	STD (%) (n = 3)			
	14,9	4,0		

## IV. Résultats des analyses par UHPLC-MS/MS

Dix échantillons d'aliments pour volailles et 35 échantillons d'œufs lyophilisés groupés, contenant 10 œufs dans chaque échantillon, ont été analysés pour la prévalence des ENNs et la BEA. Les résultats ont montré que seule l'ENN B1 a été détectée dans 9 des 10 échantillons d'aliments pour volailles, avec des niveaux de contamination allant de 3,6 à 41,5  $\mu\text{g/kg}$ , tandis

## Résultats et discussion

que la BEA n'a été détectée que dans un échantillon à une concentration de 12 µg/kg. Cependant, aucune des mycotoxines recherchées n'a été détectée dans les œufs (tableau 8).

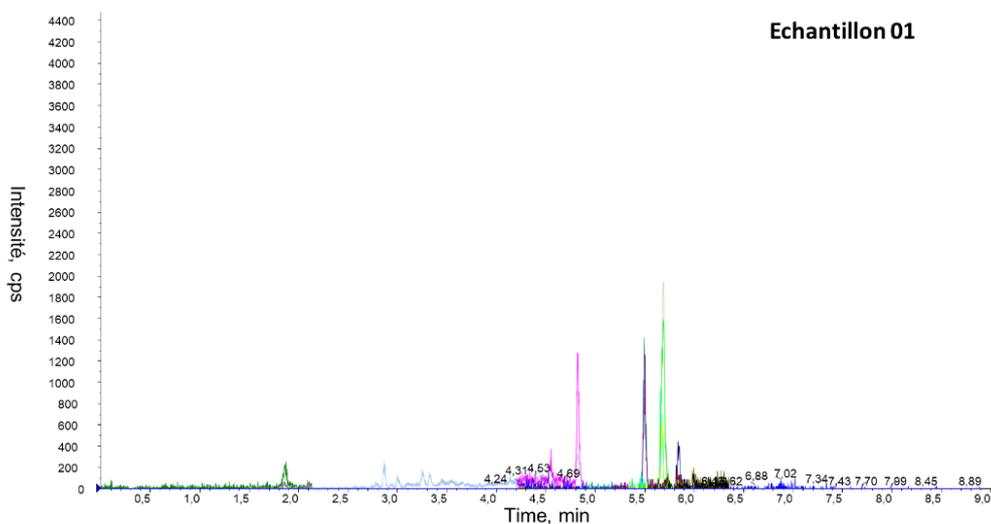
Tableau 8. Les résultats de l'analyse par UHPLC-MS/MS.

ENN B <sub>1</sub>		
Echantillon N°	Concentration (µg/kg)	STD (%) (n = 4)
02	15,1	12,2
03	24,8	6,8
04	41,5	6,2
05	< LOQ	11,4
06	10,5	11,2
07	6,7	12,5
08	3,9	6,2
09	34,9	14,3
10	3,6	1,1

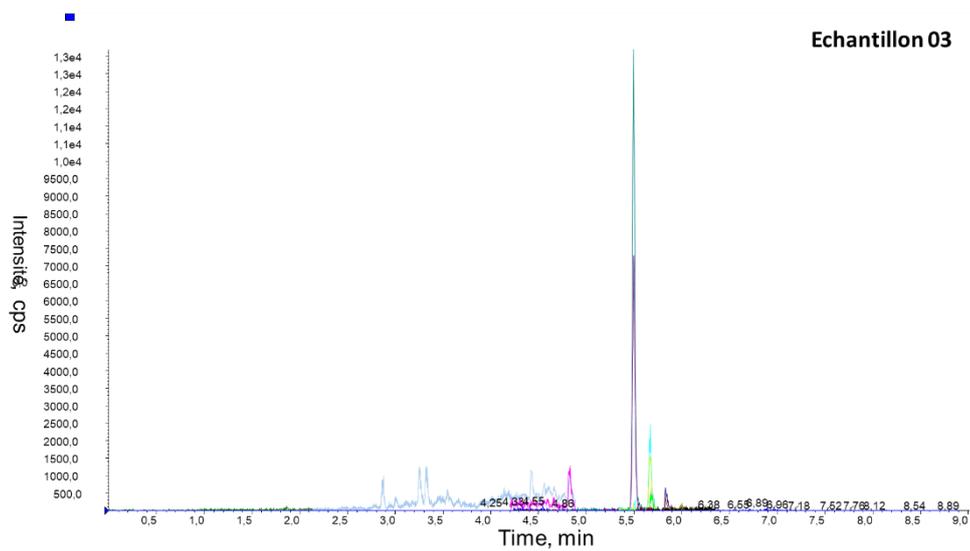
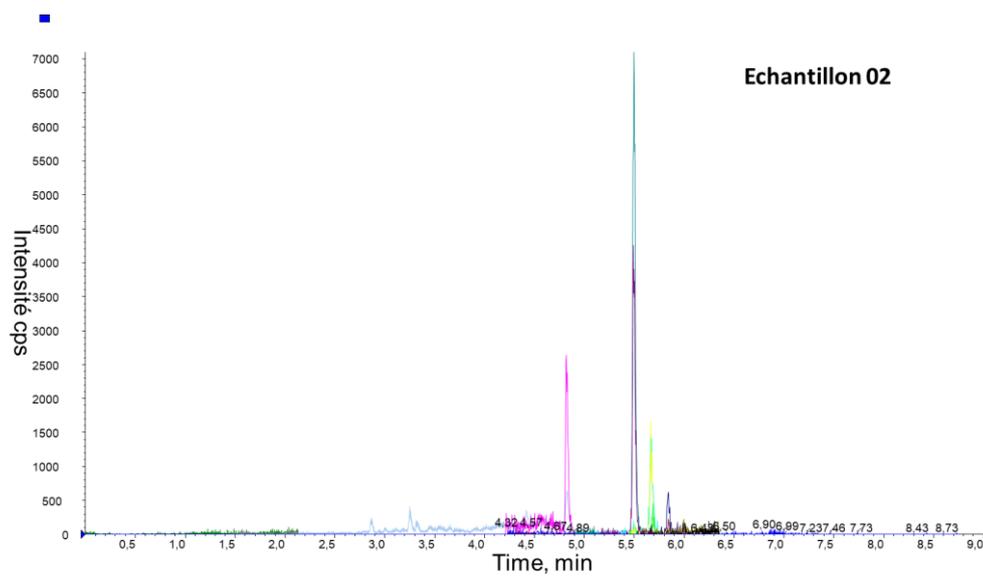
  

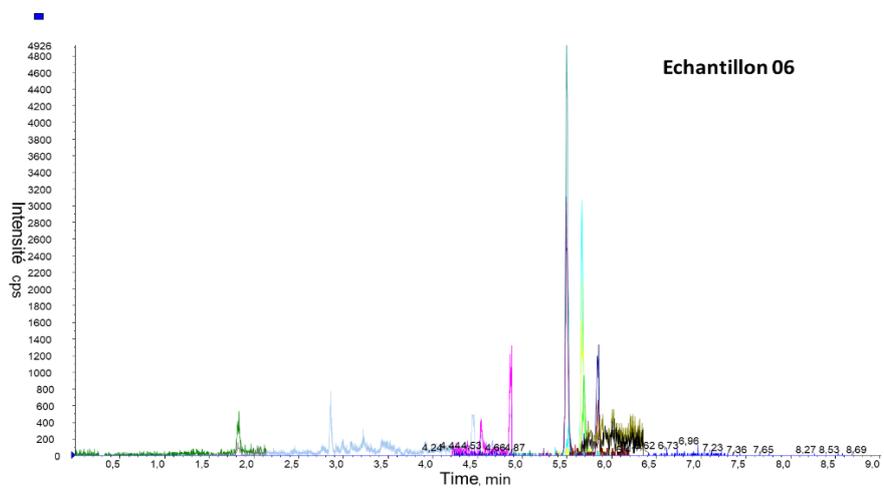
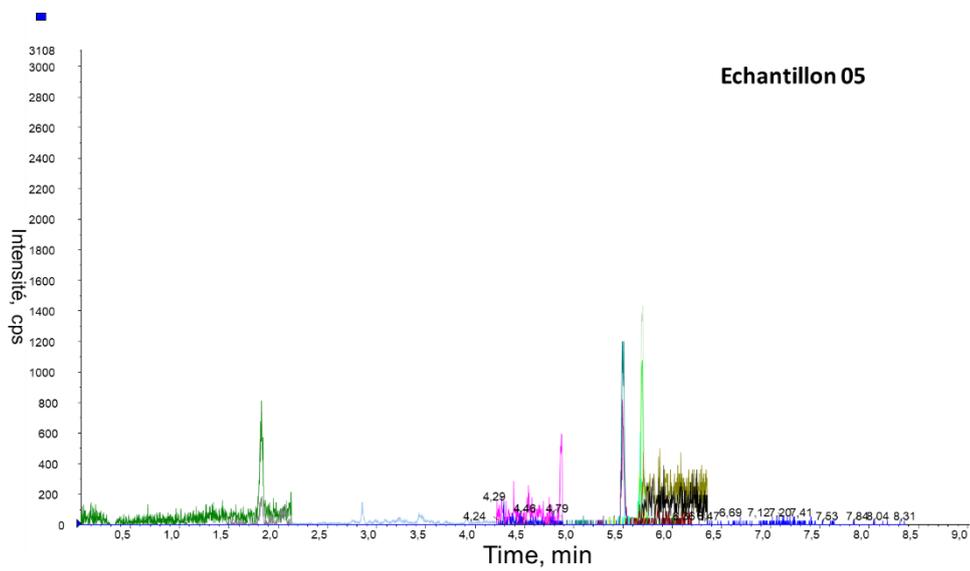
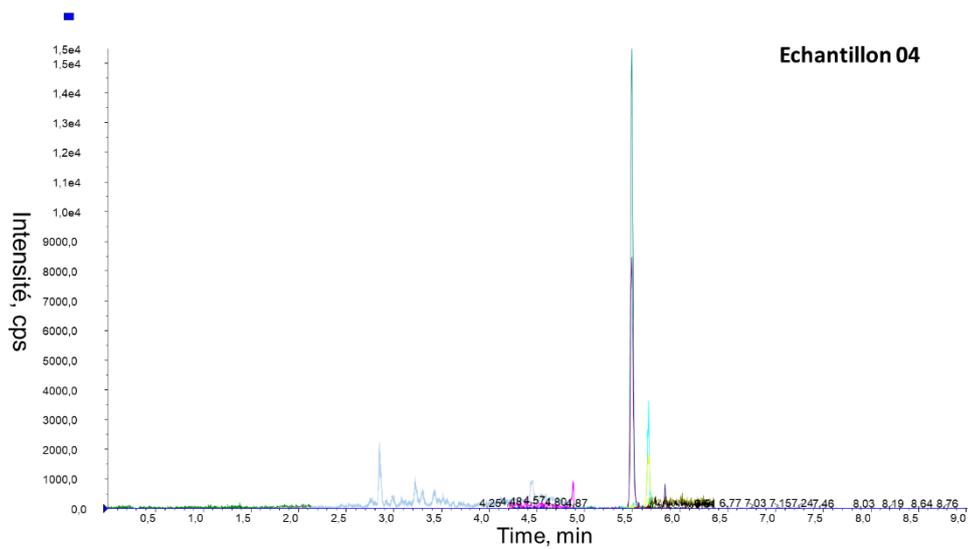
BEA		
Echantillon N°	Concentration (µg/kg)	STD (%) (n = 4)
08	12	8,5

Les courbes obtenues des analyses par UHPLC-MS/MS sont montrées dans la figure 36.

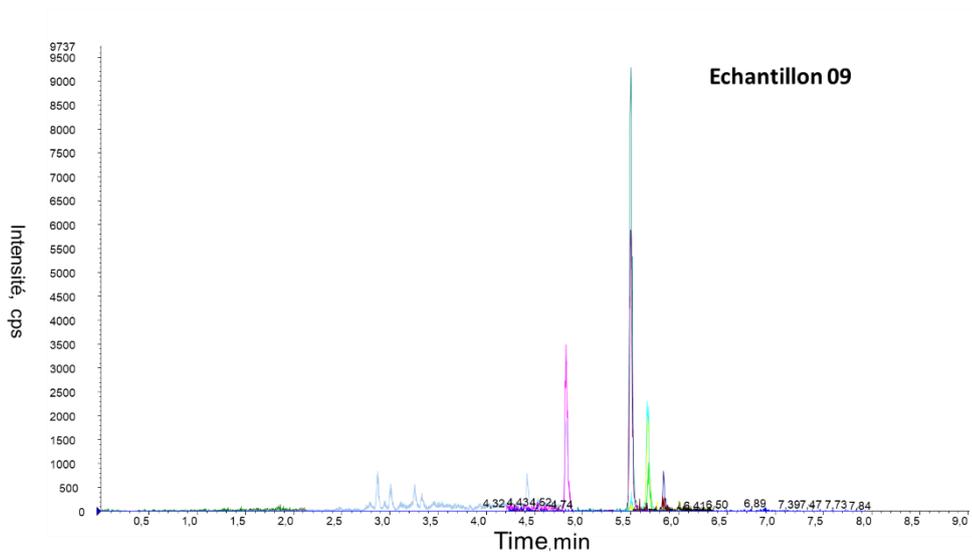
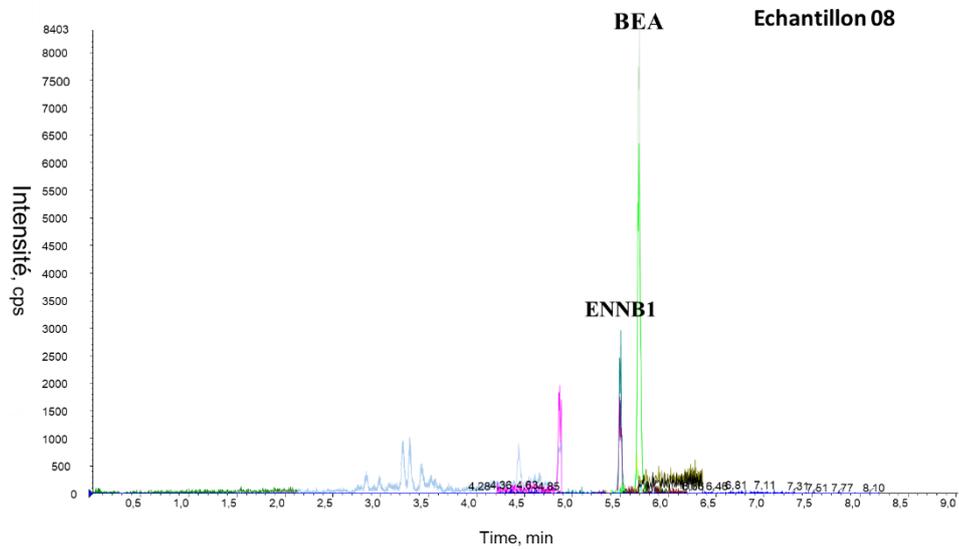
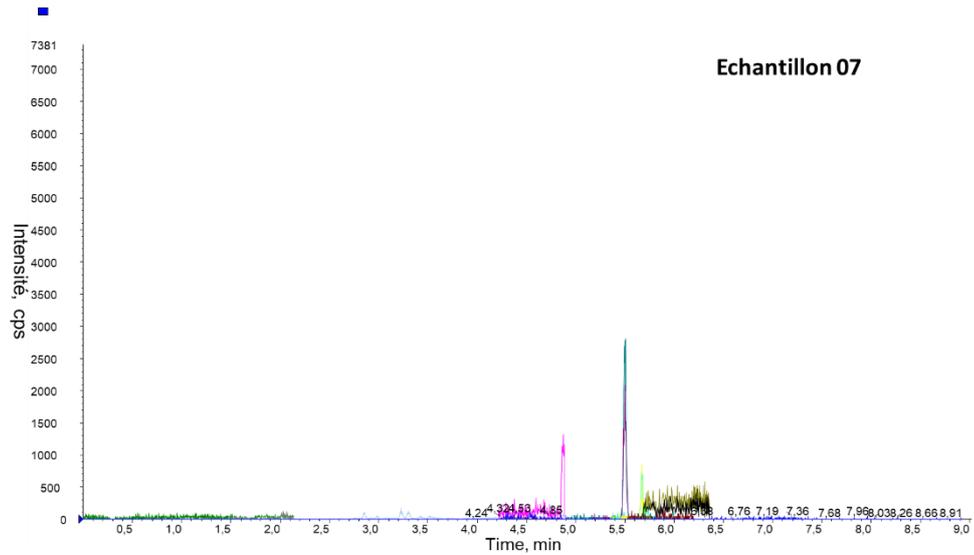


## Résultats et discussion





## Résultats et discussion



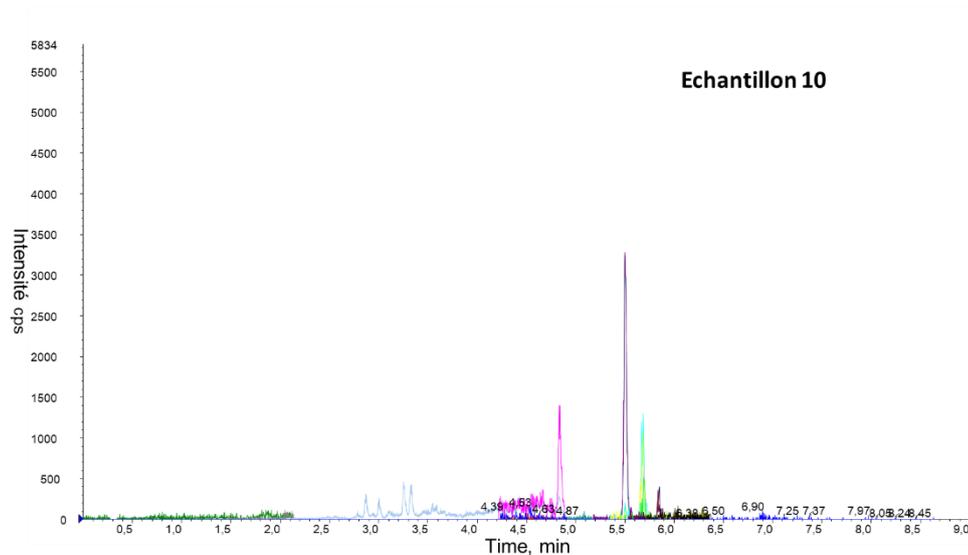


Figure 35. Les courbes obtenues des analyses par UHPLC-MS/MS.

Les variations dans les niveaux de contamination en mycotoxines entre les échantillons d'aliment, mettent en lumière l'hétérogénéité de la présence de mycotoxines entre les différents échantillons. Cette observation met en évidence la nature complexe et dynamique de la contamination par les mycotoxines, qui est influencée par de nombreux facteurs incluant la composition de l'aliment, les conditions de stockage, et les méthodes de transformation, la variabilité dans les ingrédients des aliments, leur origine, et les techniques de préparation pouvant contribuer aux divergences dans les concentrations en mycotoxines rencontrées. Cela souligne le besoin d'une compréhension globale de l'ensemble du processus de formulation des aliments.

Les résultats des analyses ont révélé que les échantillons d'aliments numéro 3, 4 et 9 présentaient les niveaux de contamination en ENNB1 les plus élevés, avec des concentrations respectives de 24,8, 41,5 et 34,9  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Ces échantillons proviennent de sources distinctes, représentant trois fermes différentes situées dans 3 régions sélectionnées. L'échantillon 3 provient de Guelma, l'échantillon 4 de Biskra et l'échantillon 9 de Batna. Ces échantillons partagent une caractéristique commune d'une concentration élevée en maïs dans leur composition. La présence de niveaux élevés de maïs, une source d'énergie fréquemment utilisée dans l'alimentation des volailles, est particulièrement intéressante. Des études précédentes ont mis en évidence le maïs comme une matrice prédominante pour l'occurrence de mycotoxines, souvent fortement contaminée (González-Jartín et al., 2021). Ceci concorde avec les conclusions selon lesquelles le maïs et les aliments composés pour animaux sont des sources

prépondérantes de mycotoxines émergentes (Fumagalli et al., 2021). En conséquence, les compositions riches en maïs des échantillons 3, 4 et 9 pourraient être un contributeur essentiel aux niveaux élevés d'ENN B1 détectés dans ces échantillons.

La présence d'ENN B1 dans ces trois échantillons pourrait également être attribuée à des facteurs tels que des températures élevées à Biskra et des niveaux d'humidité importants à Guelma et Batna. Ces conditions, surtout combinées à des méthodes de stockage inadéquates, peuvent accélérer la prolifération des champignons *Fusarium* sur les cultures. De telles circonstances peuvent avoir un impact significatif sur la génération de mycotoxines et la contamination qui en découle, soulignant les implications potentielles de ces occurrences.

L'absence de mycotoxines détectables dans les œufs analysés présente une observation convaincante qui nécessite une enquête approfondie. Ce contraste frappant entre la présence de mycotoxines dans les aliments et leur absence dans les œufs soulève des questions intrigantes sur les dynamiques complexes régissant le transfert et la biodisponibilité de ces composés tout au long du cycle de production. Une explication plausible est que les processus métaboliques des poules pondeuses ou d'autres facteurs non identifiés ont pu contribuer à limiter le transfert des mycotoxines des aliments vers les œufs. Les mécanismes physiologiques complexes en jeu dans les systèmes digestifs et reproducteurs des poules pourraient jouer un rôle dans la modification des mycotoxines, affectant ainsi leur transfert potentiel.

La recherche de Rodríguez-Carrasco et al. (2020) sur les *Enniatines* indique que ces substances sont efficacement décomposées dans l'organisme de la poule pondeuse en raison de leur métabolisme de phase I rapide, qui implique la modification enzymatique des composés au sein d'un organisme, résultant en des transformations chimiques qui les rendent souvent plus solubles dans l'eau et facilitent ainsi leur élimination. En conséquence, cette transformation rapide peut être en partie responsable des quantités réduites de molécules d'*Enniatines* parentales dans les échantillons d'œufs analysés, puisqu'elles peuvent être digérées avant d'atteindre des niveaux détectables.

La recherche menée par Emmanuel K et al. (2020) met en lumière un aspect critique du transfert des mycotoxines des aliments vers les œufs dans le contexte de la production de volaille. Les résultats soulignent que le taux de transfert des aliments vers les œufs est effectivement assez faible. Plus précisément, après une période de 2 à 3 jours de consommation d'aliments contaminés, les taux de transfert de ENN B, ENN B1 et BEA vers les œufs ont été mesurés à 0,1%, 0,05% et 0,44% respectivement. Il est à noter que des niveaux constants de contamination ont persisté pendant environ 5 à 6 jours, suivis de l'obtention d'œufs exempts de toxines après 9 à 10 jours lorsque les poules pondeuses ont été nourries avec des aliments non contaminés.

Cela indique un transfert minimal et progressif de ces mycotoxines spécifiques des aliments vers divers produits avicoles, y compris les œufs. Bien que les faibles taux de transfert observés suggèrent que ces mycotoxines ne contribuent que marginalement à l'apport alimentaire total des consommateurs, les implications à long terme ne peuvent être négligées. Sur une période prolongée, la consommation continue d'aliments présentant même de faibles niveaux de contamination pourrait potentiellement entraîner l'accumulation de mycotoxines dans les abats de poulet, les produits à base de viande et les œufs. La perspective d'une telle exposition prolongée soulève des inquiétudes quant à la mycotoxicose, une affection qui peut se manifester par des effets chroniques sur la santé en raison de l'ingestion continue de produits contaminés par des mycotoxines. Cela concorde avec la préoccupation scientifique plus large soulignée par Lee and Ryu (2015), selon laquelle la consommation d'aliments contaminés par des mycotoxines présente non seulement le risque de mycotoxicose chronique, mais également d'intoxication aiguë aux conséquences potentiellement mortelles.

Dans l'étude réalisée par Jestoi et al. (2009), dans laquelle la BEA et l'ENN ont été découvertes pour la première fois dans des échantillons d'œufs, les analyses des échantillons d'œufs (112 œufs entiers et 367 jaunes d'œufs) ont montré que la BEA et l'ENN B et l'ENN B1 peuvent être présents dans les œufs. Cependant, la plupart des mycotoxines ont été trouvées à l'état de traces, spécifiquement à des concentrations inférieures à la limite de quantification : 1,0 ; 0,03 ; 0,42 ; 0,40 ; 1,12 µg/kg pour la BEA, ENN A, ENN A1, ENN B et ENN B1, respectivement. D'autre part, l'ENN A et l'ENN A1 n'ont été trouvés dans aucun des échantillons d'œufs entiers, ce qui est également en accord avec les résultats obtenus dans la présente étude.

Selon Liu et al. (2021), les résultats de l'analyse de cinq mycotoxines (BEA, ENN A, ENN A1, ENN B et ENN B1) dans 114 échantillons d'œufs, 45 œufs du commerce et 69 œufs ruraux, ont révélé que la BEA avait un taux de détection de 30,4% dans les échantillons d'œufs ruraux avec des concentrations variant de 0,3 à 9,8 µg/kg. Dans les échantillons d'œufs commerciaux, un seul échantillon était contaminé par la BEA à une concentration de 4,3 µg/kg. Cependant, les quatre ENNs ont été trouvés à des niveaux de concentration inférieurs à la limite de détection : 0,5 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,5 et 0,3 µg/kg pour la BEA, ENN A, ENN A1, ENN B et ENN B1, respectivement. Ces résultats sont en accord avec les conclusions du présent travail.

La présence de capteurs de mycotoxines dans les aliments pourrait également être un facteur déterminant influençant le phénomène observé. Ces molécules, couramment utilisés dans les formulations d'aliments pour animaux, ont la capacité d'adsorber les mycotoxines dans le tractus gastro-intestinal, réduisant ainsi leur biodisponibilité pour l'absorption. De plus, ils pourraient réduire les niveaux de contamination en modifiant la composition chimique des mycotoxines

(Sarandan et al., 2012; Wang et al., 2021). En conséquence, la présence de capteurs de mycotoxines dans les aliments pourrait potentiellement entraver l'absorption des mycotoxines par les poules pondeuses, influençant ainsi leur absence dans les œufs. Cela souligne l'interaction complexe entre les additifs alimentaires et la dynamique des mycotoxines dans le processus de production de volaille. Selon Chowdhury and Smith (2004), les poules pondeuses sont vulnérables à une exposition à long terme aux mélanges de mycotoxines de *Fusarium*, mais de nombreux effets négatifs peuvent être évités en supplémentant leur alimentation avec des capteurs de mycotoxines. Jiang et al. (2014) ont montré que ces effets négatifs peuvent être partiellement atténués par l'ajout alimentaire de capteurs de mycotoxines à un taux de 2 g/kg dans les régimes alimentaires.

Bien que les mycotoxines émergentes soient généralement considérées comme moins nocives que leurs homologues réglementées, les interactions entre les deux groupes de mycotoxines ont le potentiel d'augmenter leur toxicité combinée (Rossi et al., 2020). Lorsque des mycotoxines réglementées et émergentes coexistent sur des matrices naturelles, plus de dommages sont observés (Pérez-Fuentes et al., 2021). On suppose que la BEA et les ENNs ont un effet toxique primaire en raison de leurs caractéristiques ionophoriques, qui leur permettent de former des complexes stables et lipophiles avec les cations, et de les transporter vers des matrices lipophiles comme les membranes cellulaires, provoquant des perturbations de l'équilibre osmotique. De plus, les ENNs et la BEA génèrent des canaux sélectifs aux cations dans les membranes cellulaires, altérant les activités membranaires (Kamyar et al., 2004). Ainsi, les mycotoxines émergentes provoquent une cytotoxicité médiée par la mitochondrie dans les cellules de neuroblastome humain, ce qui suggère qu'elles peuvent être nocives pour la santé humaine si elles ne sont pas contrôlées (Chiminelli et al., 2022).

## V. Résultats des analyses par le Kit Elisa

Les résultats obtenus ont montré que 26 des 42 échantillons analysés présentaient une contamination à l'Ochratoxine A dépassant la valeur limite de quantification (LOQ) établie de 1,5 ng/g du kit ELISA utilisé. Le niveau moyen de contamination dans ces échantillons positifs a été déterminé à 2,59 ng/g, avec un intervalle de contamination qui allait de 2,23 à 3,23 ng/g (Tableau 9).

## Résultats et discussion

Tableau 9. Fréquence de contamination dans les échantillons d'aliment.

Wilayas	Fréquence de contamination (ng.g <sup>-1</sup> )			
	< LOQ	Echantillons positifs (%)	Intervalle (Min-Max)	Moyenne ± STD
Annaba	1	0 (0%)	1,07	/
Batna	3	11 (78,57%)	ND – 3,39	2,25 ± 0,65
Biskra	5	0 (0%)	ND – 1,44	/
Constantine	1	3 (75%)	1,04 – 3,59	2,49 ± 0,05
Guelma	2	5 (71,43)	1,08 – 3,54	2,44 ± 0,57
Mila	0	1 (100%)	3,23	3,23
Oum El Bouaghi	2	3 (60%)	ND – 3,10	2,93 ± 0,14
Setif	2	3 (60%)	ND – 2,78	2,23 ± 0,55
<b>Total</b>	<b>16</b>	<b>26 (61,9%)</b>	<b>ND – 3,59</b>	<b>2,59 ± 0,40</b>

- **ND : non-déecté ; juste les échantillons qui excèdent la LOQ sont considérés pour le calcul de la moyenne.**
- **STD : écart type**

L'analyse de la variation des taux de contamination selon les différents états d'échantillonnage, à savoir Annaba, Batna, Biskra, Constantine, Guelma, Mila, Oum El Bouaghi et Sétif, montre une différence hautement significative avec des valeurs de probabilité ( $F = 4,09$   $P = 0,001$  ;  $P < 1\%$ ). En comparaison du classement des wilayas selon le taux de contamination, l'analyse de comparaison des moyennes (Tukey) a révélé trois groupes (figure 37):

- Le groupe "A" composé de Mila et Oum El Bouaghi ; ce groupe comprend les wilayas ayant les taux de contamination les plus élevés.
- Le groupe "AB" composé de Constantine et Guelma ayant des taux de contamination intermédiaires.
- Le groupe "BC" composé de Batna et Sétif ayant les taux de contamination les plus faibles.

Le groupe "C" composé de Biskra et Annaba avec des concentrations < LOQ.

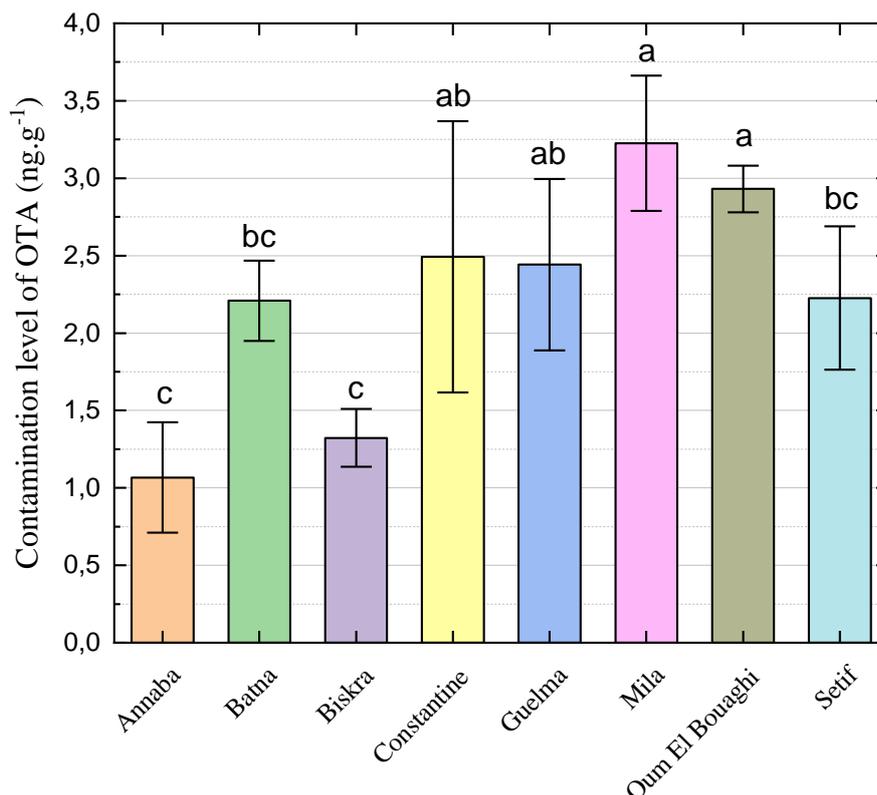


Figure 36. Taux de contamination d'OTA (ng.g<sup>-1</sup>) dans les échantillons des wilayas étudiées.

Le climat et l'humidité de la région semblent jouer un rôle clé, les wilayas du nord-est plus humides enregistrant une contamination plus élevée et les wilayas intérieures avec climat chaud et sec présentant des niveaux de contamination plus faibles, d'après les résultats, les taux de contamination les plus élevés ont été trouvés dans les wilayas de Mila et Oum El Bouaghi, Constantine et Guelma voyant des taux légèrement plus faibles. Ces quatre wilayas ont un climat méditerranéen caractérisé par des températures modérées, une humidité élevée et de fortes précipitations. Les conditions humides dans ces régions contribuent probablement aux taux de contamination élevés en fournissant des conditions favorables à l'accumulation et à la persistance des contaminants dans l'environnement. Batna et Sétif avaient les taux de contamination les plus faibles. Ces wilayas intérieures ont un climat sec avec de faibles précipitations. Les conditions arides peuvent être la cause l'accumulation limités des contaminants, entraînant probablement la contamination observée plus faible.

Les wilayas de Biskra et Annaba avaient des concentrations inférieures aux niveaux quantifiables. Biskra dans le Sahara a un climat désertique extrêmement aride. Annaba a une concentration de 1,07 ng/g, ce qui est inférieur à la LOQ pour une ville située sur la

côte algérienne avec un niveau d'humidité élevé ; cela peut être dû à d'autres facteurs tels qu'un temps de stockage d'aliment court (15 jours).

De même, l'étude menée au Pakistan par Abidin et al. (2017), a révélé une prévalence accrue d'OTA pendant les mois avec une humidité plus élevée et des températures propices à la croissance des moisissures ; leur enquête, qui impliquait l'analyse d'échantillons d'aliments pour volailles de sources diverses, a révélé des variations des niveaux d'OTA selon les saisons. En particulier, une prévalence accrue d'échantillons positifs à l'OTA était évidente de juillet à octobre, lorsque les conditions environnementales étaient plus propices à la prolifération des moisissures. Inversement, la contamination à l'OTA était moins fréquente entre novembre et février, probablement en raison de circonstances environnementales moins favorables. Ces tendances reflètent étroitement les schémas d'occurrence observés dans la présente étude.

En se concentrant sur la conformité avec les réglementations de l'Union européenne (UE), qui a établi une limite maximale de 5 ng/g pour la contamination à l'Ochratoxine dans les aliments pour volailles, les résultats des échantillons analysés dans la région de l'Est algérien révèlent que tous les échantillons analysés ont des niveaux de contamination inférieurs à la limite maximale de l'UE, ce qui concorde avec un grand nombre d'études menées dans le monde. Ainsi, Fareed et al. (2014) ont examiné 186 échantillons d'aliments pour poulets finis et semi finis pour l'Ochratoxine A (OTA). L'analyse ELISA quantitative a révélé un taux d'incidence global de 50%, l'OTA étant détectée dans 63,15% des échantillons d'ingrédients alimentaires et 29,17% des échantillons d'aliments finis. Bien que le gluten de maïs ait présenté la contamination à l'OTA la plus élevée, aucun des aliments n'a dépassé la limite autorisée par l'UE pour l'OTA dans les aliments finis pour volailles. Cette observation concorde avec les résultats d'autres études, telles que Šegvić Klarić et al. (2008), qui ont étudié des échantillons en Croatie et ont rapporté des concentrations en OTA inférieures aux niveaux autorisés par l'UE, démontrant une tendance à la réduction de la présence de mycotoxines ces dernières années.

Par ailleurs, Sherazi et al. (2015), ont analysé les aliments pour volailles au Pakistan et ont constaté que certains échantillons dépassaient la limite réglementaire maximale de l'UE pour l'OTA. Une autre étude a observé un scénario parallèle en Jordanie, où les niveaux d'OTA dans les aliments pour volailles et les échantillons de maïs dépassaient parfois les normes de l'UE. En Serbie, Krnjaja et al. (2014), ont détecté l'OTA dans tous les échantillons d'aliments pour volailles, mais ces niveaux restaient inférieurs à la limite maximale

recommandée de l'UE. Keutchatang et al. (2022) ont également examiné les aliments pour poulets et ont noté des concentrations en OTA bien inférieures au seuil défini par l'UE.

Dans une autre étude, 129 échantillons d'aliments, de maïs et de viande de poulet ont été obtenus de plusieurs marchés jordaniens et testés par ELISA pour déterminer les quantités d'Ochratoxine A dans les aliments pour volailles et la viande. L'OTA était présente dans environ 38,5% des échantillons d'aliments, 50% des échantillons de maïs et 100% des échantillons d'aliments qui étaient exposés directement au soleil, avec des concentrations moyennes de  $2,90 \pm 0,26$  ;  $2,35 \pm 0,32$  ;  $10,30 \pm 0,59$  ng.g<sup>-1</sup> respectivement. Les résultats des tests ont montré qu'aucun des échantillons testés n'a dépassé les normes de l'UE (Al Khalaileh, 2018).

En outre, les résultats de la présente étude, menée en Algérie, où des capteurs de mycotoxines sont couramment utilisés dans l'alimentation des volailles, mettent en évidence l'influence substantielle de ces capteurs sur les résultats de l'étude. Une étude menée par Mimoune et al. (2023) a testé l'ajout d'un capteur de mycotoxines (MICOTEC 0,1 %) et d'un acidifiant (TECAVIAR 0,1 %), tous deux commercialisés en Algérie, dans l'alimentation de poulets de chair ; les sujets qui ont consommé l'alimentation supplémentée pendant l'essai ont présenté de meilleurs résultats que le groupe témoin ; les sujets étudiés ont non seulement montré une diminution considérable de la mortalité (51,47 %), mais aussi une amélioration des paramètres zootechniques. Ces résultats concordent avec d'autres recherches, démontrant ensemble une réduction notable des niveaux de mycotoxines ces derniers temps (Kabak et al., 2006; Varga et al., 2010; Di Stefano et al., 2014; Karlovsky et al., 2016).

De plus, les procédures standard de transformation des aliments pour animaux, telles que le tri, le broyage, le trempage et l'extrusion, couramment appliquées dans la production d'aliments pour volailles, peuvent également aider à abaisser les niveaux de mycotoxines par une surveillance attentive et le respect des meilleures pratiques dans la production d'aliments, Ceci contribue en retour à améliorer la sécurité alimentaire et à protéger la santé des volailles, soulignant l'importance continue du maintien de mesures rigoureuses de lutte contre les mycotoxines dans l'industrie (Duarte et al., 2012).

# Conclusion

### Conclusion

Cette étude exhaustive représente une avancée majeure dans l'évaluation des risques liés à la contamination par les mycotoxines dans le secteur avicole algérien, un domaine crucial pour l'économie et la sécurité alimentaire nationale. En se concentrant sur la région Est de l'Algérie, une zone clé pour la production avicole où la population est particulièrement exposée aux produits avicoles, cette recherche fournit des données inédites et d'une importance capitale sur les niveaux réels de contamination par l'*Ochratoxine A* et les mycotoxines émergentes.

L'utilisation d'une approche analytique combinant des tests immuno-enzymatiques ELISA, reconnus pour leur grande sensibilité dans la détection de l'OTA, avec la technique de pointe de chromatographie liquide ultra-haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (UHPLC-MS/MS) pour les *Enniatines* et la *beauvéricine*. Cette approche analytique combinée a facilité une évaluation approfondie des risques d'exposition. Elle a permis de recueillir un ensemble de nouvelles données, contribuant ainsi à combler une lacune significative dans notre compréhension de la prévalence des mycotoxines dans la chaîne avicole algérienne.

Les résultats obtenus, en établissant des niveaux de référence précis de contamination par ces composés toxiques, représentent une étape cruciale vers la mise en place de programmes de surveillance et de contrôle qualité rigoureux, ainsi que le développement de mesures d'atténuation appropriées. Cette étude met en lumière l'importance vitale de lutter contre la présence de mycotoxines, y compris les mycotoxines émergentes moins réglementées mais tout aussi préoccupantes, dans les aliments pour volailles et les œufs produits en Algérie.

En soulignant les enjeux majeurs de sécurité alimentaire et de santé publique liés à l'ingestion potentielle de produits avicoles contaminés par la population algérienne, principale consommatrice de ces denrées, ce travail ouvre la voie à des actions concrètes visant à protéger les consommateurs. Les données probantes générées guideront les agriculteurs, les autorités compétentes et l'ensemble de la filière avicole dans l'élaboration de stratégies anti-mycotoxines efficaces et adaptées au contexte local.

Des efforts de recherche supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les sources de contamination et les facteurs contribuant à la présence de mycotoxines dans la région de l'est algérien. Des études complémentaires peuvent se concentrer sur le développement de méthodes de détection plus sensibles et spécifiques, ainsi que sur l'évaluation des effets combinés de multiples mycotoxines sur la santé humaine.

# **Références bibliographiques**

### Références bibliographiques

- Abd-Elghany, S. M., Sallam K. I.** (2015) Rapid determination of total aflatoxins and ochratoxins A in meat products by immuno-affinity fluorimetry. *Food chemistry*. 179:253-256. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.140>.
- Abidin, Z., Khatoon A., Arooj N., Hussain S., Ali S., Manzoor A., Saleemi M.** (2017) Estimation of ochratoxin A in poultry feed and its ingredients with special reference to temperature conditions. *British poultry science*. 58(3):251-255. DOI: <https://doi.org/10.1080/00071668.2017.1293797>.
- Abrunhosa, L., Morales H., Soares C., Calado T., Vila-Chã A. S., Pereira M., Venâncio A.** (2016) A review of mycotoxins in food and feed products in Portugal and estimation of probable daily intakes. *Critical reviews in food science nutrition*. 56(2):249-265. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.720619>.
- Afssa (2009). Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale: 1-308.
- Agriopoulou, S.** (2016) Enniatins: An emerging food safety issue. *EC Nutrition*. 5(3):1142-1146. <https://www.ecronicon.com/ecnu/volume5-issue3.php>.
- Ait Mimoune, N., Arroyo-Manzanares N., Gámiz-Gracia L., García-Campaña A. M., Bouti K., Sabaou N., Riba A.** (2018) *Aspergillus* section Flavi and aflatoxins in dried figs and nuts in Algeria. *Food Additives & Contaminants: Part B*. 11(2):119-125. DOI: <https://doi.org/10.1080/19393210.2018.1438524>.
- Al Khalaileh, N. I.** (2018) Prevalence of Ochratoxin A in Poultry Feed and Meat from Jordan. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*. 21(5):239-244. DOI: <https://doi.org/10.3923/pjbs.2018.239.244>
- Alcaide-Molina, M., Ruiz-Jiménez J., Mata-Granados J., de Castro M. L.** (2009) High through-put aflatoxin determination in plant material by automated solid-phase extraction on-line coupled to laser-induced fluorescence screening and determination by liquid chromatography–triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1216(7):1115-1125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.12.049>.
- Aldred, D., Magan N.** (2004) Prevention strategies for trichothecenes. *Toxicology letters*. 153(1):165-171. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.04.031>.
- Alexopoulos, C. J., Mims C. W.** (1979) *Introductory mycology*, Jhon Wiley & Sons.
- Alloui, N., Bennoune O.** (2013) Poultry production in Algeria: Current situation and future prospects. *World's Poultry Science Journal*. 69(3):613-620. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0043933913000615>.
- Aloui, A., Salah-Abbès J. B., Zinedine A., Meile J. C., Riba A., Durand N., Montet D., Abbès S., Brabet C.** (2023) Occurrence of pre-and postharvest multi-mycotoxins in durum wheat grains collected in 2020 and 2021 in two climatic regions of Tunisia. *Food Additives & Contaminants: Part B*. 16(3):274-287. DOI: <https://doi.org/10.1080/19393210.2023.2219996>.
- Alshannaq, A., Yu J.-H.** (2017) Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food. *International journal of environmental research and public health*. 14(6):632. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph14060632>.
- Amare, M. G., Keller N. P.** (2014) Molecular mechanisms of *Aspergillus flavus* secondary metabolism and development. *Fungal Genetics and Biology*. 66:11-18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2014.02.008>.
- Amezqueta, S., Schorr-Galindo S., Murillo-Arbizu M., Gonzalez-Peñas E., De Cerain A. L., Guiraud J.** (2012) OTA-producing fungi in foodstuffs: A review. *Food Control*. 26(2):259-268. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.01.042>.

- Aravind, K., Patil V., Devegowda G., Umakantha B., Ganpule S.** (2003) Efficacy of esterified glucomannan to counteract mycotoxicosis in naturally contaminated feed on performance and serum biochemical and hematological parameters in broilers. *Poultry Science*. 82(4):571-576. DOI: <https://doi.org/10.1093/ps/82.4.571>.
- Arroyo-Manzanares, N., Rodríguez-Estévez V., Arenas-Fernández P., García-Campaña A. M., Gámiz-Gracia L.** (2019) Occurrence of mycotoxins in swine feeding from Spain. *Toxins*. 11(6):342. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins11060342>.
- Atoui, A.** (2006). Approche de la mycotoxinogenese chez *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus carbonarius*: Etudes moleculaire et physiologique.
- Audhya, T., Russell D. W.** (1974) Production of enniatins by *Fusarium sambucinum*: selection of high-yield conditions from liquid surface cultures. *Microbiology*. 82(1):181-190. DOI: <https://doi.org/10.1099/00221287-82-1-181>.
- Ault, S. K., Schott M.** (1994) *Aspergillus*, aspergillosis, and composting operations in California, Research Services Section, Grants and Research Branch, Markets, Research and ....
- Authority, E. F. S.** (2004) Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed. *EFSA Journal*. 39:1-27. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2004.39>.
- Ayerst, G.** (1969) The effects of moisture and temperature on growth and spore germination in some fungi. *Journal of stored products research*. 5(2):127-141. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(69\)90055-1](https://doi.org/10.1016/0022-474X(69)90055-1).
- Ayofemi Olalekan Adeyeye, S.** (2020) Aflatoxigenic fungi and mycotoxins in food: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*. 60(5):709-721. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1548429>.
- Azzoune, N.** (2011). Etude des popuation du genres *Aspergillus* et *penicillium* et de leurs mycotoxines isolees des epices et des legumes secs, Université de Boumerdès-M'hamed Bougara.
- Badillet, G., Bievre C., Gueho E.** (1987) Champignons contaminants des cultures, Editions Varia.
- Balendres, M. A. O., Karlovsky P., Cumagun C. J. R.** (2019) Mycotoxigenic fungi and mycotoxins in agricultural crop commodities in the Philippines: A review. *Foods*. 8(7):249. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods8070249>.
- Baquião, A. C., de Oliveira M. M. M., Reis T. A., Zorzete P., Atayde D. D., Correa B.** (2013) Polyphasic approach to the identification of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from Brazil nuts. *Food chemistry*. 139(1-4):1127-1132. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.007>.
- Bau, M., Bragulat M. R., Abarca M. L., Minguez S., Cabañes F. J.** (2006) Ochratoxin A producing fungi from Spanish vineyards. *Advances in food mycology*, Springer, 173-179. DOI: [https://doi.org/10.1007/0-387-28391-9\\_10](https://doi.org/10.1007/0-387-28391-9_10).
- Beizaei, A., O'Kane S. L., Kamkar A., Misaghi A., Henehan G., Cahill D. J.** (2015) Highly sensitive toxin microarray assay for aflatoxin B1 detection in cereals. *Food Control*. 57:210-215. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.03.039>.
- Benkerroum, S., Tantaoui Elaraki A.** (2001) Study of toxigenic moulds and mycotoxins in poultry feeds. *Revue de Medecine Veterinaire*. DOI: <https://doi.org/10.5555/20013079403>.
- Bennett, J.** (1987) Mycotoxins, mycotoxicoses, mycotoxicology and mycopathologia. *Mycopathologia*. 100:3-5. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00769561>.
- Bennett, J., Klich M.** (2003) Mycotoxins. *Clinical microbiology reviews*. 16:497. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.16.3.497-516.2003>.

- Biró, K., Solti L., Barna-Vetró I., Bagó G., Glávits R., Szabó E., Fink-Gremmels J.** (2002) Tissue distribution of ochratoxin A as determined by HPLC and ELISA and histopathological effects in chickens. *Avian Pathology*. 31(2):141-148. DOI: <https://doi.org/10.1080/03079450120118621>.
- Blesa, J., Moltó J.-C., El Akhdari S., Mañes J., Zinedine A.** (2014) Simultaneous determination of Fusarium mycotoxins in wheat grain from Morocco by liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. *Food Control*. 46:1-5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.04.019>.
- Bocquet, J.** (1993) Généralités sur les microorganismes en biotechnologies. *Tec & Doc*.
- Börjesson, T., Stöllman U., Schnürer J.** (1990) Volatile metabolites and other indicators of *Penicillium aurantiogriseum* growth on different substrates. *Applied and Environmental Microbiology*. 56(12):3705-3710. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.56.12.3705-3710.1990>.
- Bornay-Llinares, F. J., da Silva A. J., Moura H., Schwartz D. A., Visvesvara G. S., Pieniazek N. J., Cruz-López A., Hernández-Jaúregui P., Guerrero J., Enriquez F. J.** (1998) Immunologic, microscopic, and molecular evidence of *Encephalitozoon intestinalis* (*Septata intestinalis*) infection in mammals other than humans. *Journal of Infectious Diseases*. 178(3):820-826. DOI: <https://doi.org/10.1086/515356>.
- Botton, B., Breton A., Fèvre M., Guy P., Larpent J., Veau P.** (1990) Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle.
- Bourais, I., Amine A.** (2006) Aflatoxines: Toxiques redoutables dans nos aliments. *Les technologies de laboratoire*. 1. DOI: <https://doi.org/10.34874/PRSM.teclab-volliss0.316>.
- Cahagnier, B., Richard-Molard D.** (1998) Analyse mycologique in Moisissures des aliments peu hydratés, Ed. *Tec & Doc*.140-158.
- Capriotti, A. L., Cavaliere C., Piovesana S., Samperi R., Laganà A.** (2012) Multiclass screening method based on solvent extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the determination of antimicrobials and mycotoxins in egg. *Journal of Chromatography A*. 1268:84-90. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.10.040>.
- Catanante, G., Rhouati A., Hayat A., Marty J. L.** (2016) An overview of recent electrochemical immunosensing strategies for mycotoxins detection. *Electroanalysis*. 28(8):1750-1763. DOI: <https://doi.org/10.1002/elan.201600181>.
- Chabasse, D., Guiguen C., Contet-Audonneau N.** (2002) Mycologie médicale, SciELO Brasil.
- Chain, E. P. o. C. i. t. F.** (2014) Scientific Opinion on the risks to human and animal health related to the presence of beauvericin and enniatins in food and feed. *EFSA Journal*. 12(8):3802. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3802>.
- Chakroun, Y., Oueslati S., Pinson-Gadais L., Abderrabba M., Savoie J.-M.** (2022) Characterization of *Fusarium acuminatum*: a potential enniatins producer in Tunisian wheat. *Journal of Fungi*. 8(5):458. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof8050458>.
- Chauhan, R., Singh J., Sachdev T., Basu T., Malhotra B.** (2016) Recent advances in mycotoxins detection. *Biosensors and Bioelectronics*. 81:532-545. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.03.004>.
- Chen, A., Frisvad J. C., Sun B., Varga J., Kocsubé S., Dijksterhuis J., Kim D., Hong S.-B., Houbraken J., Samson R. A.** (2016) *Aspergillus* section *Nidulantes* (formerly *Emericella*): Polyphasic taxonomy, chemistry and biology. *Studies in Mycology*. 84:1-118. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2016.10.001>.
- Chiminelli, I., Spicer L. J., Maylem E. R., Caloni F.** (2022) Emerging mycotoxins and reproductive effects in animals: A short review. *Journal of Applied Toxicology*. 42(12):1901 - 1909. DOI: <https://doi.org/10.1002/jat.4311>.

- Chowdhury, S. R., Smith T. K.** (2004) Effects of feeding blends of grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on performance and metabolism of laying hens. *Poultry Science*. 83(11):1849-1856. DOI: <https://doi.org/10.1093/ps/83.11.1849>.
- Cohen, H., Lapointe M.** (1986) Determination of ochratoxin A in animal feed and cereal grains by liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*. 69(6):957-959. DOI: <https://doi.org/10.1093/jaoac/69.6.957>.
- Dawson, W., Jestoi M., Rizzo A., Nicholson P., Bateman G.** (2004) Field evaluation of fungal competitors of *Fusarium culmorum* and *F. graminearum*, causal agents of ear blight of winter wheat, for the control of mycotoxin production in grain. *Biocontrol Science Technology*. 14(8):783-799. DOI: <https://doi.org/10.1080/09583150410001720680>.
- de Nijs, M., van den Top H., de Stoppelaar J., Lopez P., Mol H.** (2016) Fate of enniatins and deoxynivalenol during pasta cooking. *Food chemistry*. 213:763-767. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.024>.
- Decler, M., Rajkovic A., Sas B., Maddar A., De Saeger S.** (2016) Development and validation of ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry methods for the simultaneous determination of beauvericin, enniatins (A, A1, B, B1) and cereulide in maize, wheat, pasta and rice. *Journal of Chromatography A*. 1472:35-43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.10.003>.
- Denli, M., Perez J. F.** (2010) Ochratoxins in feed, a risk for animal and human health: control strategies. *Toxins*. 2(5):1065-1077. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins2051065>.
- Di Stefano, V., Pitonzo R., Cicero N., D'Oca M. C.** (2014) Mycotoxin contamination of animal feedingstuff: detoxification by gamma-irradiation and reduction of aflatoxins and ochratoxin A concentrations. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 31(12):2034-2039. DOI: <https://doi.org/10.1080/19440049.2014.968882>.
- Diba, K., Kordbacheh P., Mirhendi S., Rezaie S., Mahmoudi M.** (2007) Identification of *Aspergillus* species using morphological characteristics. *Pakistan journal of medical sciences*. 23(6):867.
- Dinis, A., Lino C., Pena A.** (2007) Ochratoxin A in nephropathic patients from two cities of central zone in Portugal. *Journal of pharmaceutical biomedical analysis*. 44(2):553-557. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.12.001>.
- Duarte, S. C., Lino C. M., Pena A.** (2012) Food safety implications of ochratoxin A in animal-derived food products. *The Veterinary Journal*. 192(3):286-292. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.11.002>.
- El-Banna, A., Pitt J., Leistner L.** (1987) Production of mycotoxins by *Penicillium* species. *Systematic Applied Microbiology*. 10(1):42-46. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(87\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(87)80008-5).
- El Khoury, A.** (2007). Champignons Mycotoxinogènes et Ochratoxine A (OTA) et Aflatoxine B1 (AFB1) dans les vignobles libanais: Occurrence et Origine.
- El Khoury, A., Atoui A.** (2010) Ochratoxin A: General overview and actual molecular status. *Toxins*. 2(4):461-493. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins2040461>.
- Emmanuel K, T., Els V. P., Bart H., Evelyne D., Els V. H., Els D.** (2020) Carry-over of some *Fusarium* mycotoxins in tissues and eggs of chickens fed experimentally mycotoxin-contaminated diets. *Food and Chemical Toxicology*. 145:111715. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111715>.
- Eskola, M., Kos G., Elliott C. T., Hajšlová J., Mayar S., Krska R.** (2020) Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited 'FAO estimate' of 25%. *Critical reviews in food science and nutrition*. 60(16):2773-2789. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1658570>.

- Fareed, G., Anjum M. A., Ahmed N.** (2014) Determination of Aflatoxin and Ochratoxin in poultry feed ingredients and finished feed in humid semi-tropical environment. *Journal of advanced veterinary animal research*. 1(4):201-207. DOI: [http://bdvets.org/JAVAR/V1I4/a38\\_pp201-207.pdf](http://bdvets.org/JAVAR/V1I4/a38_pp201-207.pdf).
- Ficheux, A., Sibiril Y., Parent-Massin D.** (2013) Effects of beauvericin, enniatin b and moniliformin on human dendritic cells and macrophages: An in vitro study. *Toxicon*. 71:1-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.04.024>.
- Föllmann, W., Behm C., Degen G. H.** (2009) The emerging Fusarium toxin enniatin B: in-vitro studies on its genotoxic potential and cytotoxicity in V79 cells in relation to other mycotoxins. *Mycotoxin research*. 25:11-19. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12550-008-0002-y>.
- Frenich, A. G., Romero-González R., Gómez-Pérez M. L., Vidal J. L. M.** (2011) Multi-mycotoxin analysis in eggs using a QuEChERS-based extraction procedure and ultra-high-pressure liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1218(28):4349-4356. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.05.005>.
- Frisvad, J. C., Frank J. M., Houbraken J., Kuijpers A. F., Samson R. A.** (2004) New ochratoxin A producing species of *Aspergillus* section *Circumdati*. *Studies in Mycology*. 50(1):23-44.
- Frisvad, J. C., Thrane U., Samson R. A., Pitt J. I.** (2006) Important mycotoxins and the fungi which produce them. *Advances in food mycology*.3-31. DOI: [https://doi.org/10.1007/0-387-28391-9\\_1](https://doi.org/10.1007/0-387-28391-9_1).
- Fumagalli, F., Ottoboni M., Pinotti L., Cheli F.** (2021) Integrated Mycotoxin Management System in the Feed Supply Chain: Innovative Approaches. *Toxins*. 13(8):572. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins13080572>.
- Gammelsrud, A., Solhaug A., Dendelé B., Sandberg W., Ivanova L., Bølling A. K., Lagadic-Gossmann D., Refsnes M., Becher R., Eriksen G.** (2012) Enniatin B-induced cell death and inflammatory responses in RAW 267.4 murine macrophages. *Toxicology Applied Pharmacology*. 261(1):74-87. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2012.03.014>.
- Ganesan, A. R., Balasubramanian B., Park S., Jha R., Andretta I., Bakare A. G., Kim I. H.** (2021) Ochratoxin A: Carryover from animal feed into livestock and the mitigation strategies. *Animal Nutrition*. 7(1):56-63. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.06.006>.
- García, C. J., Jarque J. B.** (2014) Emerging mycotoxins: enniatins (A, A1, B and B1) and beauvericin. *Mycotoxins and Their Implications In Food Safety*. 5 Howick Place, London, United Kingdom, Future Medicine. DOI: <https://doi.org/10.4155/ebo.13.624>.
- Gäumann, E., Roth S., Ettlinger L., Plattner P. A., Nager U.** (1947) Enniatin, ein neues, gegen Mykobakterien wirksames Antibiotikum. *Experientia*. 3(5):202-203. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02163993>.
- Gaumy, J., Bailly J., Burgat V., Guerre P.** (2001) Zearalenone: propriétés et toxicité expérimentale. *Revue de médecine vétérinaire*. 152(3):217-234.
- Gautier, C., Pinson-Gadais L., Richard-Forget F. J. J. o. a., chemistry f.** (2020) Fusarium mycotoxins enniatins: An updated review of their occurrence, the producing Fusarium species, and the abiotic determinants of their accumulation in crop harvests. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 68(17):4788-4798. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00411>.
- Gil-Serna, J., Vázquez C., Sardiñas N., González-Jaén M. T., Patiño B.** (2011) Revision of ochratoxin A production capacity by the main species of *Aspergillus* section

- Circumdati. *Aspergillus steynii* revealed as the main risk of OTA contamination. *Food Control*. 22(2):343-345. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.06.018>.
- Giorni, P., Magan N., Pietri A., Bertuzzi T., Battilani P.** (2007) Studies on *Aspergillus* section Flavi isolated from maize in northern Italy. *International journal of food microbiology*. 113(3):330-338. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.007>.
- Girish, C., Smith T.** (2008) Impact of feed-borne mycotoxins on avian cell-mediated and humoral immune responses. *World Mycotoxin Journal*. 1(2):105-121. DOI: <https://doi.org/10.3920/WMJ2008.1015>.
- González-Jartín, J. M., Alfonso A., Sainz M. J., Vieytes M. R., Botana L. M.** (2021) Multi-detection method for mycotoxins with a modified QuEChERS extraction in feed and development of a simple detoxification procedure. *Animal Feed Science and Technology*. 272:114745. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114745>.
- Goud, K. Y., Hayat A., Catanante G., Satyanarayana M., Gobi K. V., Marty J. L.** (2017) An electrochemical aptasensor based on functionalized graphene oxide assisted electrocatalytic signal amplification of methylene blue for aflatoxin B1 detection. *Electrochimica Acta*. 244:96-103.
- Gruber-Dorninger, C., Novak B., Nagl V., Berthiller F.** (2017) Emerging mycotoxins: Beyond traditionally determined food contaminants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 65(33):7052-7070. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03413>.
- Guarro, J., Gené J., Stchigel A. M.** (1999) Developments in fungal taxonomy. *Clinical microbiology reviews*. 12(3):454-500.
- Hamill, R. L., Higgins C., Boaz H., Gorman M.** (1969) The structure of beauvericin, a new depsipeptide antibiotic toxic to *Artemia salina*. *Tetrahedron Letters*. 10(49):4255-4258.
- Hesseltine, C. W.** (1976) Conditions leading to mycotoxin contamination of foods and feeds, ACS Publications.
- Hicks, C., Witte T. E., Sproule A., Lee T., Shoukouhi P., Popovic Z., Menzies J. G., Boddy C. N., Liu M., Overy D. P.** (2021) Evolution of the ergot alkaloid biosynthetic gene cluster results in divergent mycotoxin profiles in *Claviceps purpurea sclerotia*. *Toxins*. 13(12):861.
- Hidalgo-Ruiz, J. L., Romero-González R., Vidal J. L. M., Frenich A. G.** (2019) A rapid method for the determination of mycotoxins in edible vegetable oils by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food chemistry*. 288:22-28.
- Hinrikson, H. P., Hurst S. F., Lott T. J., Warnock D. W., Morrison C. J.** (2005) Assessment of ribosomal large-subunit D1-D2, internal transcribed spacer 1, and internal transcribed spacer 2 regions as targets for molecular identification of medically important *Aspergillus* species. *Journal of clinical microbiology*. 43(5):2092-2103.
- Hof, H.** (2020) The medical relevance of *Fusarium* spp. *Journal of Fungi*. 6(3):117.
- Houbraken, J., de Vries R. P., Samson R. A.** (2014) Modern taxonomy of biotechnologically important *Aspergillus* and *Penicillium* species. *Advances in applied microbiology*. 86:199-249.
- Huybrechts, B., Tangni E. K., Debongnie P., Geys J., Callebaut A.** (2013) Méthodes analytiques de détermination des mycotoxines dans les produits agricoles: une revue. *Cahiers Agricultures*. 22(3):202-215 (201).
- Jedidi, I., Messai A., Redouane-Salah S., Mebrek S.** (2023) Assessment of aflatoxin M1 levels in raw camel milk, cow milk and powdered milk in Algeria. *International Journal of Environmental Studies*. 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1080/00207233.2023.2222605>.

- Jestoi, M.** (2008) Emerging Fusarium-mycotoxins fusaproliferin, beauvericin, enniatins, and moniliformin—A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 48(1):21-49. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408390601062021>.
- Jestoi, M., Rokka M., Järvenpää E., Peltonen K.** (2009) Determination of Fusarium mycotoxins beauvericin and enniatins (A, A1, B, B1) in eggs of laying hens using liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS). *Food Chemistry*. 115(3):1120-1127. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.105>.
- Jiang, S. Z., Li Z., Wang G. Y., Yang Z. B., Yang W. R., Zhang G. G., Wu Y. B.** (2014) Effects of Fusarium mycotoxins with yeast cell wall absorbent on hematology, serum biochemistry, and oxidative stress in broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*. 23(2):165-173. DOI: <https://doi.org/10.3382/japr.2013-00830>.
- Juan, C., Mannai A., Salem H. B., Oueslati S., Berrada H., Juan-García A., Mañes J.** (2020) Mycotoxins presence in pre-and post-fermented silage from Tunisia. *Arabian Journal of Chemistry*. 13(8):6753-6761.
- Kabak, B., Dobson A. D., Var I. I.** (2006) Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. *Critical reviews in food science nutrition & Diabetes*. 46(8):593-619. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408390500436185>.
- Kamyar, M., Rawnduzi P., Studenik C. R., Kouri K., Lemmens-Gruber R.** (2004) Investigation of the electrophysiological properties of enniatins. *Archives of biochemistry biophysics*. 429(2):215-223. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2004.06.013>.
- Karlovsky, P., Suman M., Berthiller F., De Meester J., Eisenbrand G., Perrin I., Oswald I. P., Speijers G., Chiodini A., Recker T.** (2016) Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination. *Mycotoxin research*. 32(4):179-205. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12550-016-0257-7>.
- Kebede, H., Liu X., Jin J., Xing F.** (2019) Current status of major mycotoxins contamination in food and feed in Africa. *Food Control*. 106975.
- Keutchatang, F. D. P. T., Tchuenchieu A. K., Nguégwouo E., Mouafo H. T., Ntsama I. S. B., Kansci G., Medoua G. N.** (2022) Occurrence of Total Aflatoxins, Aflatoxin B1, and Ochratoxin A in Chicken and Eggs in Some Cameroon Urban Areas and Population Dietary Exposure. *Journal of environmental and public health*. 2022, :5541049. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/5541049>.
- Khalifa, E., Mohesien M. T., Mossa M. I., Piekutowska M., Alsuhaibani A. M., Abdel-Wahab B. A., Sotohy S. A., Ghosh S., Helmy Y. A., Hussein M.** (2022) Diversity of toxigenic fungi in livestock and poultry feedstuffs. *International Journal of Environmental Research Public Health*. 19(12):7250. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph19127250>.
- Kim, S. H., Vujanovic V.** (2016) Relationship between mycoparasites lifestyles and biocontrol behaviors against Fusarium spp. and mycotoxins production. *Applied Microbiology Biotechnology*. 100:5257-5272.
- Kolf-Clauw, M., Sassahara M., Luciola J., Rubira-Gerez J., Alassane-Kpembi I., Lyazhri F., Borin C., Oswald I. P.** (2013) The emerging mycotoxin, enniatin B1, down-modulates the gastrointestinal toxicity of T-2 toxin in vitro on intestinal epithelial cells and ex vivo on intestinal explants. *Archives of toxicology*. 87:2233-2241.
- Komarova, E., Tolkachev O.** (2001) The chemistry of peptide ergot alkaloids. Part 1. Classification and chemistry of ergot peptides. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 35(9):504-513.
- Křížová, L., Dadáková K., Dvorácková M., Kašparovský T.** (2021) Feedborne Mycotoxins Beauvericin and Enniatins and Livestock Animals. *Toxins* 2021, 13, 32. *Toxins*. 13(1):32. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins13010032>.

- Krnjaja, V., Pavlovski Z., Lukić M., Škrbić Z., Stojanović L., Bijelić Z., Mandić V.** (2014) Fungal contamination and natural occurrence of ochratoxin A (OTA) in poultry feed. *Bioechnology in Animal Husbandry*. 30(3):481-488. DOI: <https://doi.org/10.2298/BAH1403481K>.
- Krska, R., Schubert-Ullrich P., Molinelli A., Sulyok M., MacDonald S., Crews C.** (2008) Mycotoxin analysis: An update. *Food additives & contaminants*. 25(2):152-163.
- Kurtzman, C. P., Horn B. W., Hesseltine C.** (1987) *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*. *Antonie van Leeuwenhoek*. 53(3):147-158. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12550-024-00537-2>
- Laouni, C., Lara, F. J., Messai, A., Redouane-Salah, S., Hernández-Mesa, M., Gámiz-Gracia, L., & García-Campaña, A. M.** (2024). Emerging mycotoxin occurrence in chicken feed and eggs from Algeria. *Mycotoxin Research*, 1-10.
- Laouni, C., Messai, A., Redouane-Salah, S., & Djeghim, H.** (2024). Assessment of ochratoxin A occurrence in poultry feed in eastern Algeria. *International Journal of Environmental Studies*, 1-12. DOI: <https://doi.org/10.1080/00207233.2024.2369448>.
- Lamrani, K.** (2009). Étude de la biodiversité des moisissures nuisibles et utiles isolées à partir des Maâsra du Maroc. Doctorat, Université Mohammed V - Agdal.
- Larsen, T. O., Frisvad J. C.** (1995) Chemosystematics of *Penicillium* based on profiles of volatile metabolites. *Mycological research*. 99(10):1167-1174.
- Le Bars, J., Le Bars P.** (1996) Recent acute and subacute mycotoxicoses recognized in France. *Veterinary research*. 27(4-5):383-394.
- Le Bars, J., Oswald E., Le Bars P., Bonnefoi M., Bezille P., Braun J.** (1990) Ecotoxinogenesis of *Pithomyces chartarum*. *Food Additives & Contaminants*. 7(S1):S19-S21.
- Leatherhead Food Research Association** (2010) Guide to Contaminants in Foodstuffs. An international overview of maximum limits. United Kingdom, Leatherhead Food International Limited.
- Lee, H. J., Ryu D.** (2015) Advances in mycotoxin research: public health perspectives. *Journal of food science*. 80(12):T2970-T2983. DOI: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13156>.
- Li, Y., Wang Z., Beier R. C., Shen J., Smet D. D., De Saeger S., Zhang S.** (2011) T-2 toxin, a trichothecene mycotoxin: review of toxicity, metabolism, and analytical methods. *Journal of agricultural and food chemistry*. 59(8):3441-3453.
- Liu, B., Ni M., Shan X., Xie J., Dai Y., Zhang C.** (2021) Simultaneous determination of beauvericin and four enniatins in eggs by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with cold-induced liquid-liquid extraction and dispersive solid phase extraction. *Se pu = Chinese Journal of Chromatography*. 39(12):1331-1339. DOI: <https://doi.org/10.3724/sp.j.1123.2021.02015>.
- Liu, M., Kolařík M., Tanaka E.** (2022) The 168-year taxonomy of *Claviceps* in the light of variations: From three morphological species to four sections based on multigene phylogenies. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 44(6):783-792.
- Logrieco, A., Moretti A., Castella G., Kosteci M., Golinski P., Ritieni A., Chelkowski J.** (1998) Beauvericin production by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology*. 64(8):3084-3088.
- Logrieco, A., Moretti A., Ritieni A., Caiaffa M. F., Macchia L.** (2002) Beauvericin: chemistry, biology and significance. *Advances in microbial toxin research and its biotechnological exploitation*, Springer, 23-30.
- López Grío, S. J., Garrido Frenich A., Martínez Vidal J. L., Romero-González R.** (2010) Determination of aflatoxins B1, B2, G1, G2 and ochratoxin A in animal feed by ultra high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of separation science*. 33(4-5):502-508. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.200900663>.

- Luo, S., Du H., Kebede H., Liu Y., Xing F.** (2021) Contamination status of major mycotoxins in agricultural product and food stuff in Europe. *Food Control*. 127:108120. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108120>.
- Luz, C., Saladino F., Luciano F., Mañes J., Meca G.** (2017) Occurrence, toxicity, bioaccessibility and mitigation strategies of beauvericin, a minor Fusarium mycotoxin. *Food and Chemical Toxicology*. 107:430-439.
- Magan, N., Hope R., Colleate A., Baxter E.** (2002) Relationship between growth and mycotoxin production by Fusarium species, biocides and environment. *Mycotoxins in Plant Disease*, Springer, Dordrecht, 685-690. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-94-010-0001-7\\_11](https://doi.org/10.1007/978-94-010-0001-7_11).
- Magan, N., Lacey J.** (1988) Ecological determinants of mould growth in stored grain. *International Journal of Food Microbiology*. 7(3):245-256.
- Mahdjoubi, C. K., Arroyo-Manzanares N., Hamini-Kadar N., García-Campaña A. M., Mebrouk K., Gámiz-Gracia L.** (2020) Multi-mycotoxin occurrence and exposure assessment approach in foodstuffs from Algeria. *Toxins*. 12(3):194. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins12030194>.
- Malir, F., Ostry V., Pfohl-Leszkowicz A., Malir J., Toman J.** (2016) Ochratoxin A: 50 years of research. *Toxins*. 8(7):191.
- Martínez-Culebras, P., Crespo-Sempere A., Sánchez-Hervás M., Elizaquivel P., Aznar R., Ramón D.** (2009) Molecular characterization of the black Aspergillus isolates responsible for ochratoxin A contamination in grapes and wine in relation to taxonomy of Aspergillus section Nigri. *International journal of food microbiology*. 132(1):33-41.
- Miedaner, T., Geiger H. H.** (2015) Biology, genetics, and management of ergot (*Claviceps* spp.) in rye, sorghum, and pearl millet. *Toxins*. 7(3):659-678.
- Mimoune, N., Houari C., Ammari C., Hammouni R., Ait Issad N., Khelef D.** (2023) Zootechnical, bacteriological, and histometrical effects of a combination mycotoxin binder-acidifier in broiler chickens. *Veterinarska stanica*. 54(1):0-0.
- Mimoune, N. A., Riba A., Verheecke C., Mathieu F., Sabaou N.** (2021) Fungal contamination and mycotoxin production by Aspergillus spp. in nuts and sesame seeds. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2021:301-305. DOI: <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2016.5.4.301-305>.
- Mislivec, P. B., Tuite J.** (1970) Temperature and relative humidity requirements of species of *Penicillium* isolated from yellow dent corn kernels. *Mycologia*. 62(1):75-88.
- Mohammedi, D., Mohammedi S., Kardjadj M.** (2021) Prévalence des fumonisines dans les aliments pour volaille en Algérie. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*. 74(4):207-211.
- Morin, O.** (1994) Aspergillus et aspergilloses: biologie, Ed. *Techniques Encycl. Med. Chir.(Elsevier, Paris), Maladies infectieuses*.8-600.
- Naoom, R. A. F.** (2007). Estimation of aflatoxin residues for some ruminant and poultry (Local and imported) livers in Mosul. Msc, University of Mosul.
- Narduzzi, L., del Mar Delgado-Povedano M., Lara F. J., Le Bizet B., García-Campaña A. M., Dervilly G., Hernández-Mesa M.** (2023) A comparison of hydrophilic interaction liquid chromatography and capillary electrophoresis for the metabolomics analysis of human serum. *Journal of Chromatography A*. 1706:464239. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.464239>.
- Negård, M., Uhlig S., Kauserud H., Andersen T., Høiland K., Vrålstad T.** (2015) Links between genetic groups, indole alkaloid profiles and ecology within the grass-parasitic *Claviceps purpurea* species complex. *Toxins*. 7(5):1431-1456. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins7051431>.

- Nicholas, W. T., Sreenath S., Sergey A.** (2008) Analytical methods for determination of mycotoxins: a review. *Analytica Chimica Acta*. 632:168-180. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.11.010>.
- Niehaus, E. M., Studt L., von Barga K. W., Kummer W., Humpf H. U., Reuter G., Tudzynski B.** (2016) Sound of silence: the beauvericin cluster in *Fusarium fujikuroi* is controlled by cluster-specific and global regulators mediated by H3K27 modification. *Environmental Microbiology*. 18(11):4282-4302. DOI: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13576>.
- Parry, D., Jenkinson P., McLeod L.** (1995) *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals—a review. *Plant pathology*. 44(2):207-238. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1995.tb02773.xs>.
- Pasanen, A.-L., Kalliokoski P., Pasanen P., Jantunen M., Nevalainen A.** (1991) Laboratory studies on the relationship between fungal growth and atmospheric temperature and humidity. *Environment International*. 17(4):225-228. DOI: [https://doi.org/10.1016/0160-4120\(91\)90006-C](https://doi.org/10.1016/0160-4120(91)90006-C).
- Pažoutová, S., Odvody G. N., Frederickson D. E., Chudičková M., Olšovská J., Kolařík M.** (2011) New *Claviceps* species from warm-season grasses. *Fungal Diversity*. 49:145-165. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13225-011-0102-4>.
- Perelman, B., Kuttin E.** (1992) Aspergillosis in ostriches. *Avian Pathology*. 21(1):159-163. DOI: <https://doi.org/10.1080/03079459208418830s>.
- Pereyra, S., Dill-Macky R.** (2008) Colonization of the residues of diverse plant species by *Gibberella zeae* and their contribution to *Fusarium* head blight inoculum. *Plant Disease*. 92(5):800-807. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-92-5-0800>.
- Pérez-Fuentes, N., Alvariño R., Alfonso A., González-Jartín J., Gegunde S., Vieytes M. R., Botana L. M.** (2021) Single and combined effects of regulated and emerging mycotoxins on viability and mitochondrial function of SH-SY5Y cells. *Food and Chemical Toxicology*. 154:112308. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112308>.
- Perrone, G., Susca A.** (2017) *Penicillium* species and their associated mycotoxins. *Mycotoxigenic Fungi: Methods Protocols*. A. M. a. A. Susca. New York, USA, Humana New York, NY, 107-119. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6707-05>.
- Perry, E. L.** (2004) Why Fear the Fungus-Why Toxic Mold Is and Is Not the Next Big Toxic Tort. *Buffalo Law Review*. 52:257. <https://digitalcommons.law.buffalo.edu/buffalolawreview/vol52/iss1/7>.
- Peterson, S. W., Varga J., Frisvad J. C., Samson R. A., Varga J., Samson R.** (2008) Phylogeny and subgeneric taxonomy of *Aspergillus*. *Aspergillus in the genomic era*. J. V. a. R. A. Samson. Leiden, Netherlands, Wageningen Academic. 57, 33-56. DOI: [https://doi.org/10.3920/9789086866359\\_003](https://doi.org/10.3920/9789086866359_003).
- Pfohl-Leszkowicz, A.** (1999) *Mycotoxins in food: evaluation and risk management*. Paris, France, Technique et Documentation Lavoisier.
- Pitt, J. I., Hocking A. D.** (2009) *Fungi and food spoilage*. New York, USA, Springer New York, NY.
- Plattner, R. D., Nelson P. E.** (1994) Production of beauvericin by a strain of *Fusarium proliferatum* isolated from corn fodder for swine. *Applied and Environmental Microbiology*. 60(10):3894-3896. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.60.10.3894-3896.1994>.
- Pleiss, U., Turberg A., Harder A., Londershausen M., Jeschke P., Boheim G.** (1996) Synthesis of a radiolabeled enniatin cyclodepsipeptide [3H-methyl] JES 1798. *Journal of Labelled Compounds Radiopharmaceuticals*. 38(7):651-659. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1344\(199607\)38:7<651::AID-LCR881>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1344(199607)38:7<651::AID-LCR881>3.0.CO;2-S).

- Prosperini, A., Berrada H., Ruiz M. J., Caloni F., Coccini T., Spicer L. J., Perego M. C., Lafranconi A.** (2017) A review of the mycotoxin enniatin B. *Frontiers in Public Health*. 5:304. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00304>.
- Marie-Alix d'Halewyn, Jean-Marc Leclerc, Norman King, Marcel Bélanger, Michel Legris, Yves Frenette** (2002) Les risques à la santé associés à la présence de moisissures en milieu intérieur : rapport scientifique. Québec, Canada, Institut national de santé publique Québec.
- Rabaaoui, A., Dall'Asta C., Righetti L., Susca A., Logrieco A. F., Namsi A., Gdoura R., Werbrouck S. P., Moretti A., Masiello M.** (2021) Phylogeny and mycotoxin profile of pathogenic *Fusarium* species isolated from sudden decline syndrome and leaf wilt symptoms on date palms (*Phoenix dactylifera*) in Tunisia. *Toxins*. 13(7):463. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins13070463>.
- Reboux, G., Bellanger A.-P., Roussel S., Grenouillet F., Millon L.** (2011) Moisissures et habitat: risques pour la santé et espèces impliquées. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*. 72(4):352-362. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.admp.2011.07.017>.
- Redouane-Salah, S., Messaï A., Djeghim H.** (2023) First report on the occurrence of aflatoxin B1 in coffee marketed in eastern Algeria. *International Journal of Environmental Studies*. 80(6):1834-1842. DOI: <https://doi.org/10.1080/00207233.2023.2181595>.
- Redouane-Salah, S., Messaï A.** (2023) Occurrence of Toxinogenic Fungi in Livestock Feeds in Eastern Algeria. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*.2491-2498. DOI: <https://doi.org/10.47750/pnr.2023.14.S02.293>.
- Redouane-Salah, S., Morgavi D., Arhab R., Messai A., Boudra H.** (2015) Presence of aflatoxin M1 in raw, reconstituted, and powdered milk samples collected in Algeria. *Environmental monitoring and assessment*. 187(6):1-4. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4627-y>.
- Regulation Commission.** (2006) setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union, Geneva. **1881/2006**: L364/365-L364/324.
- Richard-Forget, F., Atanasova V., Chereau S.** (2020) Using metabolomics to guide strategies to tackle the issue of the contamination of food and feed with mycotoxins: A review of the literature with specific focus on *Fusarium* mycotoxins. *Food Control*.107610. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107610>.
- Richard, J. L.** (2007) Some major mycotoxins and their mycotoxicoses—An overview. *International journal of food microbiology*. 119(1-2):3-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.019>.
- Rodríguez-Carrasco, Y., Narváez A., Izzo L., Gaspari A., Graziani G., Ritieni A.** (2020) Biomonitoring of enniatin B1 and its phase I metabolites in human urine: First large-scale study. *Toxins*. 12(6):415. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins12060415>.
- Rossi, F., Gallo A., Bertuzzi T.** (2020) Emerging mycotoxins in the food chain. *Mediterranean Journal of Nutrition Metabolism*. 13(1):7-27. DOI: <https://doi.org/10.3233/MNM-190345>.
- Rouvier, M.** (2002). L'orchratoxine A: nature, origine et toxicité.
- Ruppol, P., Delfosse P., Hornick J.-L.** (2004) Contamination of dairy products by mycotoxins: a public health risk for sub-Saharan Africa. *Annales Medecine Veterinaire*. 148(3):141-146. [http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2004\\_148\\_3\\_04.pdf](http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2004_148_3_04.pdf).
- Russell, L., Cox D., Larsen G., Bodwell K., Nelson C.** (1991) Incidence of molds and mycotoxins in commercial animal feed mills in seven Midwestern states, 1988–1989. *Journal of animal science*. 69(1):5-12. DOI: <https://doi.org/10.2527/1991.6915>.

- Sabater-Vilar, M., Malekinejad H., Selman M., Van Der Doelen M., Fink-Gremmels J.** (2007) In vitro assessment of adsorbents aiming to prevent deoxynivalenol and zearalenone mycotoxicoses. *Mycopathologia*. 163(2):81-90. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11046-007-0093-6>.
- Sanchis, V., Magan N.** (2004) Environmental conditions affecting mycotoxins. Mycotoxins in food: Detection control. N. M. a. M. Olsen. Cambridge, England, Woodhead publishing limited, 174-189.
- Santos Pereira, C., C Cunha S., Fernandes J. O.** (2019) Prevalent mycotoxins in animal feed: Occurrence and analytical methods. *Toxins*. 11(5):290. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins11050290>.
- Sarandan, H., Decun M., Paunescu V., Ordodi V., Bojin F., Hutu I., Pop C., Zarcu S., Burian C., Tanasie G.** (2012) Deoxynivalenol and Ochratoxin A inactivation in broiler chickens' feed. *Romanian Biotechnological Letters*. 17(6):7825-7834. <https://rombio.unibuc.ro/wp-content/uploads/2022/05/17-6-13.pdf>.
- Schirdewahn, T., Mascher F., Bucheli T. D., Bertossa M., Musa T., Wettstein F. E., Keller B., Vogelgsang S.** (2016) Facteurs culturels affectant les *Fusarium* spp. et les mycotoxines dans l'orge suisse. *Recherche agronomique suisse*. 372. <https://shorturl.at/zACE4>.
- Šegvić Klarić, M., Pepeljnjak S., Cvetnić Z., Kosalec I.** (2008) Comparison between ELISA and TLC/HPLC methods for determination of zearalenone and ochratoxin A in food and feed. *Krmiva: Časopis o hranidbi životinja, proizvodnji i tehnologiji krme*. 50(5):235-244. <https://hrcaj.srce.hr/32670>.
- Serrano, A., Font G., Mañes J., Ferrer E.** (2013) Comparative assessment of three extraction procedures for determination of emerging *Fusarium* mycotoxins in pasta by LC-MS/MS. *Food Control* 32(1):105-114. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.037>.
- Sforza, S., Dall'Asta C., Marchelli R.** (2006) Recent advances in mycotoxin determination in food and feed by hyphenated chromatographic techniques/mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*. 25:54-76. DOI: <https://doi.org/10.1002/mas.20052>.
- Shareef, A.** (2010) Molds and mycotoxins in poultry feeds from farms of potential mycotoxicosis. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 24(1). <https://www.iasj.net/iasj/download/c874990a43fc8efe>.
- Shephard, G. S.** (2008) Determination of mycotoxins in human foods. *Chemical Society Reviews*. 37(11):2468-2477. DOI: <https://doi.org/10.1039/B713084H>.
- Sherazi, S., Shar Z., Sumbal G., Tan E. T., Bhangar M., Kara H., Nizamani S.** (2015) Occurrence of ochratoxin A in poultry feeds and feed ingredients from Pakistan. *Mycotoxin research*. 31:1-7. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12550-014-0216-0>.
- Shin, C.-G., An D.-G., Song H.-H., Lee C.** (2009) Beauvericin and enniatins H, I and MK1688 are new potent inhibitors of human immunodeficiency virus type-1 integrase. *The Journal of antibiotics*. 62(12):687-690. DOI: <https://doi.org/10.1038/ja.2009.102>.
- Sifou, A., Meca G., Serrano A. B., Mahnine N., El Abidi A., Mañes J., El Azzouzi M., Zinedine A.** (2011) First report on the presence of emerging *Fusarium* mycotoxins enniatins (A, A1, B, B1), beauvericin and fusaproliferin in rice on the Moroccan retail markets. *Food Control*. 22(12):1826-1830. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.04.019>.
- Silva, D. M., Batista L. R., Rezende E. F., Fungaro M. H. P., Sartori D., Alves E.** (2011) Identification of fungi of the genus *Aspergillus* section *nigri* using polyphasic taxonomy. *Brazilian Journal of Microbiology*. 42(2):761-773. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000200044>.

- Sklenář, F., Jurjević Ž., Peterson S., Kolařík M., Nováková A., Flieger M., Stodůlková E., Kubátová A., Hubka V. (2020) Increasing the species diversity in the *Aspergillus* section *Nidulantes*: Six novel species mainly from the indoor environment. *Mycologia*. 112(2):342-370. DOI: <https://doi.org/10.1080/00275514.2019.1698923>.
- Smith, M.-C., Madec S., Coton E., Hymery N. (2016) Natural co-occurrence of mycotoxins in foods and feeds and their in vitro combined toxicological effects. *Toxins*. 8(4):94. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins8040094>.
- Songsermsakul, P., Razzazi-Fazeli E. (2008) A review of recent trends in applications of liquid chromatography-mass spectrometry for determination of mycotoxins. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies®*. 31(11-12):1641-1686. DOI: <https://doi.org/10.1080/10826070802126395>.
- Sotnichenko, A., Pantsov E., Shinkarev D., Okhanov V. (2019) Hydrophobized reversed-phase adsorbent for protection of dairy cattle against lipophilic toxins from diet. efficiency in vitro and in vivo. *Toxins*. 11(5):256. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins11050256>.
- Steyn, P. S. (1995) Mycotoxins, general view, chemistry and structure. *Toxicology letters*. 82:843-851. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(95\)03525-7](https://doi.org/10.1016/0378-4274(95)03525-7).
- Streit, E., Schatzmayr G., Tassis P., Tzika E., Marin D., Taranu I., Tabuc C., Nicolau A., Aprodu I., Puel O. (2012) Current situation of mycotoxin contamination and co-occurrence in animal feed—Focus on Europe. *Toxins*. 4(10):788-809. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins4100788>.
- Strohl, W. R. (2003) Antimicrobials. *Microbial diversity and bioprospecting*.336-355. DOI: <https://doi.org/10.1128/9781555817770.ch31>.
- Summerell, B. A., Leslie J. F., Liew E. C., Laurence M. H., Bullock S., Petrovic T., Bentley A. R., Howard C. G., Peterson S. A., Walsh J. L. (2011) *Fusarium* species associated with plants in Australia. *Fungal Diversity*. 46:1-27. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13225-010-0075-8>.
- Sunesson, A., Vaes W., Nilsson C., Blomquist G., Andersson B., Carlson R. (1995) Identification of volatile metabolites from five fungal species cultivated on two media. *Applied and Environmental Microbiology*. 61(8):2911-2918. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.61.8.2911-2918.1995>.
- Svingen, T., Lund Hansen N., Taxvig C., Vinggaard A. M., Jensen U., Have Rasmussen P. (2017) Enniatin B and beauvericin are common in Danish cereals and show high hepatotoxicity on a high-content imaging platform. *Environmental toxicology*. 32(5):1658-1664. DOI: <https://doi.org/10.1002/tox.22367>.
- Tabuc, C. (2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines.
- Tantaoui-Elaraki, A., Riba A., Oueslati S., Zinedine A. (2018) Toxicogenic fungi and mycotoxin occurrence and prevention in food and feed in northern Africa—a review. *World Mycotoxin Journal*. 11(3):385-400. DOI: <https://doi.org/10.3920/WMJ2017.2290>.
- Tao, Y., Xie S., Xu F., Liu A., Wang Y., Chen D., Pan Y., Huang L., Peng D., Wang X. (2018) Ochratoxin A: Toxicity, oxidative stress and metabolism. *Food and Chemical Toxicology*. 112:320-331. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.01.002>.
- Tatfo Keutchatang, F. D. P., Tchuenchieu A. K., Nguégwouo E., Mouafo H. T., Bouelet Ntsama I. S., Kansci G., Medoua G. N. (2022) Occurrence of Total Aflatoxins, Aflatoxin B1, and Ochratoxin A in Chicken and Eggs in Some Cameroon Urban Areas and Population Dietary Exposure. *Journal of Environmental Public Health*. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/5541049>.

- Technology, C. o. A. S. a. (2003). *Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems*. Iowa, USA.
- Tedjiotsop Feudjio, F., Dornetshuber R., Lemmens M., Hoffmann O., Lemmens-Gruber R., Berger W.** (2010) Beauvericin and enniatin: emerging toxins and/or remedies? *World Mycotoxin Journal*. 3(4):415-430.
- Teixeira, L., Coelho L., Tebaldi N. D.** (2017) Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates and resistance of passion fruit genotypes to fusariosis. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 39:e-415. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-29452017415>
- Thibault, N., Burgat V., Guerre P.** (1997) Les fumonisines: nature, origine et toxicité. *Revue de Medecine Veterinaire*. 148:369-388.
- Todescato, F., Antognoli A., Meneghello A., Cretaió E., Signorini R., Bozio R.** (2014) Sensitive detection of Ochratoxin A in food and drinks using metal-enhanced fluorescence. *Biosensors Bioelectronics*. 57:125-132. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.01.060>.
- Tomczyk, Ł., Szablewski T., Stuper-Szablewska K., Nowaczewski S., Cegielska-Radziejewska R.** (2019) The influence of the conditions of acquisition and storage of table eggs on changes in their quality and the presence of mycobiota and *Fusarium* mycotoxins. *Poultry Science*. 98(7):2964-2971. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps/pez156>.
- Tonshin, A. A., Teplova V. V., Andersson M. A., Salkinoja-Salonen M. S.** (2010) The *Fusarium* mycotoxins enniatins and beauvericin cause mitochondrial dysfunction by affecting the mitochondrial volume regulation, oxidative phosphorylation and ion homeostasis. *Toxicology*. 276(1):49-57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2010.07.001>.
- Turner, N. W., Bramhmbhatt H., Szabo-Vezse M., Poma A., Coker R., Piletsky S. A.** (2015) Analytical methods for determination of mycotoxins: An update (2009–2014). *Analytica chimica acta*. 901:12-33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.10.013>.
- Vahl, M., Jørgensen K.** (1998) Determination of aflatoxins in food using LC/MS/MS. *Zeitschrift für lebensmitteluntersuchung und-forschung A*. 206(4):243-245. DOI: <https://doi.org/10.1007/s002170050251>.
- Van Egmond, H. P., Jonker M.** (2004) Regulations relating to mycotoxins in food, Food and Agriculture organization of the United Nations.
- Varga, J., Kocsubé S., Péteri Z., Vágvölgyi C., Tóth B.** (2010) Chemical, physical and biological approaches to prevent ochratoxin induced toxicoses in humans and animals. *Toxins*. 2(7):1718-1750. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins2071718>.
- Ventura, M., Gómez A., Anaya I., Díaz J., Broto F., Agut M., Comellas L.** (2004) Determination of aflatoxins B1, G1, B2 and G2 in medicinal herbs by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1048(1):25-29. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.07.033>.
- Verscheure, M., Lognay G., Marlier M.** (2002) Revue bibliographique: les methodes chimiques d'identification et de classification des champignons. *Biotechnologie, agronomie, société et environnement*. 6(3):131-142. DOI: <https://doi.org/hdl.handle.net/2268/87446>.
- Vesna, K., Pavlovski Z., Lukić M., Škrbić Z., Lj S., Bijelić Z., Mandić V.** (2014) Fungal contamination and natural occurrence of ochratoxin A (OTA) in poultry feed. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 30(3):481-488. DOI: <https://doi.org/10.2298/BAH1403481K>.
- Vidal, J. C., Bonel L., Ezquerro A., Hernández S., Bertolín J. R., Cubel C., Castillo J. R.** (2013) Electrochemical affinity biosensors for detection of mycotoxins: A review.

- Biosensors and Bioelectronics.* 49:146-158. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.05.008>.
- Visagie, C., Varga J., Houbraeken J., Meijer M., KocsubÚ S., Yilmaz N., Fotedar R., Seifert K., Frisvad J. C., Samson R.** (2014) Ochratoxin production and taxonomy of the yellow aspergilli (Aspergillus section Circumdati). *Studies in mycology.* 78:1-61. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.07.001>.
- Vogelgsang, S., Beyer M., Pasquali M., Jenny E., Musa T., Bucheli T. D., Wettstein F. E., Forrer H.-R.** (2019) An eight-year survey of wheat shows distinctive effects of cropping factors on different Fusarium species and associated mycotoxins. *European Journal of Agronomy.* 105:62-77. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eja.2019.01.002>.
- Vudathala, D. K., Prelusky D. B., Ayroud M., Trenholm H. L., Miller J. D.** (1994) Pharmacokinetic fate and pathological effects of 14C-fumonisin B1 in laying hens. *Natural Toxins.* 2(2):81-88. DOI: <https://doi.org/10.1002/nt.2620020206>.
- Wang, C., Li Y., Zhao Q.** (2019) A signal-on electrochemical aptasensor for rapid detection of aflatoxin B1 based on competition with complementary DNA. *Biosensors and Bioelectronics.* 144:111641. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111641>
- Wang, Q., Xu L.** (2012) Beauvericin, a bioactive compound produced by fungi: a short review. *Molecules.* 17(3):2367-2377. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules17032367>.
- Wang, Y., Quan H., Li X., Li Q., Haque M. A., Shi Q., Fu Q., He C.** (2021) Contamination With Fumonisin B and Deoxynivalenol Is a Threat to Egg Safety and Contributes to Gizzard Ulcerations of Newborn Chickens. *Frontiers in Microbiology.*1837. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.676671>.
- Wang, Y., Wang L., Liu F., Wang Q., Selvaraj J. N., Xing F., Zhao Y., Liu Y.** (2016) Ochratoxin A producing fungi, biosynthetic pathway and regulatory mechanisms. *Toxins.* 8(3):83. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins8030083>.
- Wegulo, S. N., Baenziger P. S., Nopsa J. H., Bockus W. W., Hallen-Adams H.** (2015) Management of Fusarium head blight of wheat and barley. *Crop Protection.* 73:100-107. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.02.025>.
- Weidenbach, A., Petzinger E.** (2004) Ochratoxin A: Toxicology of an abundant mycotoxin. *Current Topics in Pharmacology.* 8:235-250.
- Wicklow, D., Shotwell O.** (1983) Intrafungal distribution of aflatoxins among conidia and sclerotia of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Canadian Journal of Microbiology.* 29(1):1-5. DOI: <https://doi.org/10.1139/m83-001>.
- Wilkins, K., Larsen K.** (1995) Variation of volatile organic compound patterns of mold species from damp buildings. *Chemosphere.* 31(5):3225-3236. DOI: [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(95\)00184-A](https://doi.org/10.1016/0045-6535(95)00184-A).
- Zain, M. E.** (2011) Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi chemical society.* 15(2):129-144. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2010.06.006>.
- Zhao, Y., Liu X., Wang X., Sun C., Wang X., Zhang P., Qiu J., Yang R., Zhou L.** (2016) Development and evaluation of an up-converting phosphor technology-based lateral flow assay for rapid and quantitative detection of aflatoxin B1 in crops. *Talanta.* 161:297-303. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.08.058>.
- Zheng, M. Z., Richard J. L., Binder J.** (2006) A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. *Mycopathologia.* 161(5):261-273. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11046-006-0215-6>.
- Zheng, Z., Hanneken J., Houchins D., King R. S., Lee P., Richard J. L.** (2005) Validation of an ELISA test kit for the detection of ochratoxin A in several food commodities by comparison with HPLC. *Mycopathologia.* 159(2):265-272. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11046-004-8663-3>.

- Zhou, J., Xu J.-J., Cong J.-M., Cai Z.-X., Zhang J.-S., Wang J.-L., Ren Y.-P.** (2018) Optimization for quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction of mycotoxins and veterinary drugs by response surface methodology for application to egg and milk. *Journal of Chromatography A*. 1532:20-29. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.11.050>.
- Zinedine, A., Meca G., Mañes J., Font G.** (2011) Further data on the occurrence of Fusarium emerging mycotoxins enniatins (A, A1, B, B1), fusaproliferin and beauvericin in raw cereals commercialized in Morocco. *Food Control*. 22(1):1-5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.05.002>.

## Annexe 1 : Le questionnaire

### Identification de l'exploitation

Privée

Etatique

Commune.....Daïra.....Wilaya.....

### Le cheptel

#### 1- Provenance des poules

- Locale
- Importée

2- Souche .....

3- Capacité de l'exploitation (Nombre de batiments) .....

4- Effectif : .....

5- Age des poules : .....

#### 6- Mode d'élevage

- Elevage en cage
- Elevage au sol
- Plein air
- Bio

### Conduite sanitaire

#### 7- Plan vaccinal

- Maladie de marek
- Coccidiose
- Gumboro
- Bronchite infectieuse
- Encephalomyelite aviaire
- Salmonellose
- Pasteurellose
- Laryngotracheite infectieuse
- Collibacillose

#### 8- Analyses periodiques

- Recherche de salmonelloses

## Annexe 1

---

- Mycoplasmes
- Titrage d'anticorps
- Autres  lesquelles .....

### Concernant l'aliment

#### 9- Origine de l'aliment

- Fabriqué au niveau de l'exploitation
- Acheté d'une source privée
- Acheté d'une source étatique

#### 10- L'aliment est t-il :

- Fini
- Semi-fini
- Matière première

#### 11- Quelles sont les matières premières (Si l'aliment est fabriqué au niveau de l'exploitation):

- Mais
- Tourteau de soja
- Son de blé
- Huile de soja
- Autres

#### 12- Quantité achetée (si l'aliment est acheté):

- Grandes quantités stockées dans la ferme
- Petites quantités

#### 13- Contient des additifs ?

- Oui
- Non

Si oui lesquels .....

#### 21- Ajoutez-vous des capteurs mycotoxiques ?

- Oui
- Non

#### 22- Si oui lequel ?

- Paratox
- Aviator

## Annexe 1

---

- frettox
- 
- Toximix
- Atofirst
- Micofix
- Turbotox
- Autres  lequel .....

Quantité ajouté ?.....

**14-Temps de stockage des aliments ?**

- 03 mois
- 06 mois
- plus de 06 mois

***Dans les endroits de stockage :***

**15- Procédez-vous à la désinsectisation ?**

Oui  Non

**16- Conditions de stockage sont-elles respectées (température et humidité contrôlées)**

Oui  Non

**17- Les sacs utilisés dans le stockage sont-ils :**

- En plastiques
- En Papier
- Autres  quelle matière.....

**18- Est-ce que vous disposez d'un plan de surveillance des aliments en matière de moisissures ?**

Oui  Non

-Si oui, lequel ?.....

**19- Vérifiez-vous certains paramètres avant d'acheter l'aliment :**

- Humidité de l'aliment Oui  Non

## Annexe 1

---

- Contamination par les insectes    Oui     Non
- Contamination par la moisissure    Oui     Non

**20-** Lorsque l'aliment s'avère moisis à l'œil nu, quelle est votre conduite ?

- Destruction du lot
- Mélange progressive aux aliments sains
- Aucune mesure particulière (distribué aux animaux)

**23-** Que pensez-vous à la création d'une association qui participe avec les entreprises du secteur à la surveillance analytiques des mycotoxines :

- Très bonne idée
- Mauvaise idée
- Idée difficile à réalisée

**24-** Avez-vous une idée sur la possibilité de transfert de certaines mycotoxines de l'aliment à l'œuf ?

Oui     Non

**25-** Y a-t-il une réglementation nationale concernant les mycotoxines que vous suivez ?

- Oui
- Non

**26-** Si oui, procédez-vous à :

- Dosage des mycotoxines
- Recherche des moisissures

**27-** Mode de distribution d'aliment :

- Manuelle
- Automatique

**28-** Avez-vous déjà connu des cas où l'aliment se contamine par les moisissures ?

Oui     Non

**Après l'utilisation des capteurs mycotoxiques avez-vous constater une différence ?**

**29-** Sur la production

## Annexe 1

---

Oui

Non

### 30-Sur la qualité de l'œuf

Oui

Non

### 31- Sur la santé des poules

Oui

Non

### Paramètres technico-économiques

#### 32- Durée de la production (par semaines) :

- ≈ 70 semaines
- ≈ 80 semaines
- ≈ 85 semaines
- Plus de 86 semaines

#### 33-Taux de mortalité en période d'élevage

- Moins de 5%
- Entre 5 et 8%
- Entre 8 et 12%
- Plus de 12%

#### -Taux de mortalité en période de production

- Moins de 5%
- Entre 5 et 8%
- Entre 8 et 12%
- Plus de 12%

#### 34- Consommation d'aliment (sujet/jour en grammes)

- Moins de 100 g/j
- Entre 100 et 120 g/j
- Entre 120 et 140 g/j
- Plus de 140 g/j

#### 35- Taux de ponte

- Moins de 50%
- Entre 50 et 60%
- Entre 60 et 70%

- Plus de 80%

### 36- Pic de ponte

- $\approx$  24<sup>eme</sup> semaine
- $\approx$  26<sup>eme</sup> semaine
- $\approx$  28<sup>eme</sup> semaine
- $\approx$  30<sup>eme</sup> semaine

### Stabilité (persistance) du pic de ponte

- 2 semaines
- 4 semaines
- 6 semaines
- Plus de 7 semaines