

Ecole Inter-Etats des Sciences et **Médecine** Vétérinaires

ANNEE 1978 - N° 12

Etude des problèmes posés par les aflatoxines dans les aliments du bétail et de l'homme

— ooo —

THESE

Présentée et soutenue le 10 Juillet 1978

pour obtenir le grade de

Docteur vétérinaire (Diplôme d'Etat)

par **Mamadou Diom**

né le 16 Février 1950 à Foundiougne

«Sénégal»

Président de Thèse : Pr **Biram Diop**

-o-o-o-

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT
POUR L'ANNEE UNIVERSITAIRE 1977-1978

I - Personnel à plein temps

- 1 - PHARMACIE-TOXICOLOGIE
N.....
- 2 - PHYSIQUE MEDICALE-CHIMIE BIOLOGIQUE
N.....
- 3 - ANATOMIE-HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE
Pierre CUO Professeur
Charles Kondi AGBA Assistant
Théodore ALOGNINOUBA Moniteur
Germain SAWADOGO Moniteur
- 4 - PHYSIOLOGIE-PHARMACODYNAMIE-THERAPEUTIQUE
Alassane SERE Maître-Assistant
Emile TOIGBE Moniteur
- 5 - PARASITOLOGIE-MALADIES PARASITAIRES-ZOOLOGIE
N..... Professeur
Paulus HERMANS Assistant
Pierre Maurice TRONCY Assistant
Armand François SENOU Moniteur
- 6 - HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES D'ORIGINE ANIMALE
N..... Professeur
Malang SEYDI Assistant
Jean-François GIOVANNETTI V.S.N.
Kossi Jean ADOMEFA Moniteur
- 7 - MEDECINE ET ANATOMIE PATHOLOGIQUE
N.....
- 8 - REPRODUCTION ET CHIRURGIE
Jean FERNEY Professeur
Yves LOBJOY V.S.N.
ATREVI François Dieudonné Moniteur

.../...

9 -- MICROBIOLOGIE-PATHOLOGIE GENERALE-MALADIES CONTAGIEUSES
ET LEGISLATION SANITAIRE

Jean CHANTAL	Professeur
Pierre BORNAREL	Assistant de Recherches
Justin Ayayi AKAKPO	Assistant

10 - ZOOTECHNIE-ALIMENTATION-DROIT-ECONOMIE

Ahmadou Lamine NDIAYE	Professeur
Balaam FACHO	Assistant

II - PERSONNEL VACATAIRE

PHARMACIE-TOXICOLOGIE

Oumar SYLLA : Pharmacie - Professeur Faculté de Médecine et Pharmacie
Georges GRAS : Toxicologie - Professeur Faculté de Médecine et de Pharmacie
Aly CISSE : Pharmacie-Toxicologie - Assistant Faculté de Médecine et de Pharmacie

PHYSIQUE-CHIMIE

Raymond PAULIN : Biophysique - Maître de Conférences, Fac. Méd. et de Pharmacie
René NDOYE : Chargé d'Enseignement " " "
Moussa FADJARA : Biophysique - Assistant " "
Mme Elisabeth DUTRUGE : Biochimie -Maître-Assistant -Fac de Méd. et de Pharmacie
Bernard LANDRIEU : Biochimie - Assistant " " "

AGRONOMIE

Simon BARRETO : Maître de Recherches - O.R.S.T.O.M.

BIOCLIMATOLOGIE

Cheikh BA : Maître-Assistant - Faculté des Lettres

BOTANIQUE

Guy MAYNART : Maître-Assistant - Faculté de Médecine et de Pharmacie

DROIT ET ECONOMIE RURALE

Mouhamadou M. NIANG - Chercheur à l'IFAN

ECONOMIE GENERALE

Roger NGOSSO : Assistant - Faculté des Sciences Juridiques et Economiques

.../...

III - PERSONNEL EN MISSION (Prévu pour 1977-78)

ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Mlle Monique WYERS : Maître de Conférences - E.N.V. - ALFORT

PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

J.P. BRAUN - Maître de Conférences - E.N.V. - TOULOUSE

CHIRURGIE

Jean LE NIHOANNEN : Maître de Conférences - E.N.V. LYON

MEDECINE

J.L. POUCHELON - Maître-assistant Agrégé - E.N.V. - ALFORT

PHYSIOLOGIE

J. FARGEAS : Professeur - E.N.V. - TOULOUSE

PATHOLOGIE DU BETAIL

J. ESPINASSE : Professeur - E.N.V. - ALFORT

DENREOLOGIE

Ch. LABIE : Professeur - E.N.V. - TOULOUSE

A MA MERE , A MON PERE

Dont je ressens jusqu'au plus profond de moi l'amour
filial immense et les sacrifices qu'ils n'ont jamais
ménagés pour mon éducation.

Que ce modeste travail soit un pas de plus vers la
fin de vos peines.

A MES FRERES ET SOEURS

Puisse ce travail vous inciter à mieux faire.

A MES AMIS

Vous serez toujours réunis au fond de mon coeur.

A MES MAITRES ET JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR BIRAM DIOP

Malgré votre emploi du temps très chargé vous avez accepté de présider mon Jury de Thèse.

Nous vous en serons toujours reconnaissant.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AH. LAMINE NDIAYE

Vous m'avez proposé ce sujet et guidé dans ce travail. Cela n'a pas été facile mais votre compréhension et votre disponibilité constante m'ont beaucoup aidé.

Nous vous en sommes sincèrement reconnaissant.

MONSIEUR LE PROFESSEUR IBRAHIMA WONE

Votre gentillesse et votre ouverture m'ont beaucoup séduit.

Vous avez accepté de participer à ce jury de Thèse malgré l'effort énorme que cela nécessite de votre part.

Nous n'oublierons jamais ce geste et vous prions d'accepter nos sincères remerciements.

- A tous ceux qui ont de près ou de loin contribué à la réalisation de ce travail, en particulier :

- Au Dr. KASSE et au personnel du C.N.A. de MBAO

- A Amadou KANE et ses collègues du Laboratoire d'Aflatoxine de l'I.T.A. de Dakar.

Veillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements.

"Par délibération, la Faculté et l'École ont décidé que les opinions émises dans les dissertations qui leur seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner aucune approbation ni improbation".

E R R A T A

._o._o._o._o._o._

Page 19 - Alinéa 2, ligne 3 - lire " Ambiguité" au lieu de Ambiquité.

Page 31 - ligne 1 - lire "Cytotoxicité" au lieu de cytotoxicité.

Page 32 - Alinéa 5, ligne 2 - lire tableau \bar{X} au lieu de tableau $\bar{X}\bar{I}$.

Page 42 - Cartes : haut : répartition de l'antigène australia dans le monde (%) : Bas répartition du C.P.F dans le monde (pourcentage autopsique)

Page 61 - Alinéa 4, lire page 60 au lieu de 59

Page 59 bis - lire 62 bis au lieu de 59 bis

Page 70 - Alinéa 6, ligne 3 lire échantillonnage.

PROBLEMES POSES PAR LA PRESENCE DES AFLATOXINES

DANS LES ALIMENTS DU BETAIL ET DE L'HOMME

INTRODUCTION

Depuis une vingtaine d'années, la présence de moisissures, plus particulièrement d'*Aspergillus flavus* et de ses toxines, fait l'objet d'une attention toute particulière de la part des chercheurs et des hygiénistes.

Cependant, dès 1945, NINARD et HINTERMANN (73) avaient signalé des lésions hépatiques nécrosantes et tumorales chez des porcs soumis à des régimes renfermant des tourteaux. Ces auteurs avaient incriminé une étiologie alimentaire mais n'avaient pas précisé l'agent causal.

A l'autopsie, les animaux présentaient soit une atrophie jaune aiguë du foie avec ictère, soit des lésions d'hypertrophie nodulaire tumorale correspondant à un hépatome malin développé sur parenchyme normal ou cirrhotique.

Il faudra attendre 1960 pour soupçonner, à postériori, la véritable cause de cette maladie.

En effet, en 1960, une maladie dénommée "Maladie X du dindon" éclata en Grande Bretagne, tuant plusieurs milliers de dindonneaux par hépatite nécrosante et cancer du foie (15). Dans ces élevages, l'alimentation renfermait du tourteau d'arachide importé du Brésil.

Une enquête menée conjointement par les chercheurs du Tropical Products Institute de Londres et ceux du Central Veterinary Laboratory de Weybridge, montre que la "Maladie X du dindon" était dûe à la présence d'une moisissure de l'espèce *Aspergillus flavus*, ou plus exactement à ses toxines auxquelles ils donneront le nom d'aflatoxine (7, 12).

Par la suite, d'autres épizooties consécutives à la consommation d'aliments contaminés par *A. flavus* furent signalées dans divers élevages à travers le monde révélant du même coup la dimension internationale du problème des aflatoxines.

De nombreux groupes zoologiques sont sensibles, à des degrés variables, aux toxines de cette moisissure ; nous pouvons citer :

- Chez les volailles : le canard (95), le dindon (15,26), le poulet (53, 54) ... etc.
- Chez les mammifères : le porc (63, 73), le cobaye (22, 75), le veau (8, 48), le rat (22, 25), le singe (1, 19), l'homme (35, 59) ... etc.
- Chez les poissons : la truite arc-en-ciel (11, 56).
- Chez les bactéries : *Bacillus megaterium* et *Bacillus brevis* (21), *Bacillus thuringiensis* (20)...

Devant les conséquences physiopathologiques et économiques des facteurs toxiques produits par *A. flavus*, des chercheurs de disciplines diverses (chimistes, vétérinaires, agronomes...) vont entreprendre des études pour mieux préciser les caractéristiques de ces toxines, les conditions dans lesquelles elles sont produites, leurs effets pathogènes, et mettre au point des méthodes de dosage.

Cette étude pluridisciplinaire de la présence des aflatoxines dans les aliments du bétail et de l'homme va soulever des problèmes complexes d'ordre scientifique, technique, hygiénique et économique que nous proposons de passer en revue dans ce travail en y apportant une contribution dans le domaine physiopathologique.

- Dans la première partie de notre étude, nous considérerons les caractéristiques physico-chimiques, les conditions de production et les effets pathologiques de ces toxines.

- Ensuite dans une seconde partie, nous aborderons l'important problème de l'étiologie du cancer primitif du foie (C.P.F.) de l'homme en milieu tropical, en relation avec les aflatoxines.

- La troisième partie sera consacrée à l'étude des moyens de prévention et d'élimination des aflatoxines dans les produits agricoles et les produits d'origine animale.

P R E M I E R E P A R T I E

ASPERGILLUS FLAVUS ET SES TOXINES

1° - LA MOISSURE

Aspergillus flavus Link appartient au principal genre de la famille des Aspergillacées, de l'ordre des Plectascales, de la classe des Eucascomycètes. En culture, il présente un aspect velouté et une coloration jaune verdâtre. Au microscope, ses différentes souches sont caractérisées par leur appareil producteur de spores imparfaites, improprement appelés conidies, qui sont en réalité des phialospores. Les filaments sporophores présentent à leur bout un renflement, la vésicule ou goupillon aspergillaire, portant des phialides contenant les spores (37). L'ensemble vésicule et phialide constitue une tête aspergillaire (Fig. 1 à la page suivante).

Dès son isolement, les chercheurs se sont préoccupés de déterminer les conditions de développement et de toxinogénèse de cette moisissure.

1.1. - CONDITIONS DE DEVELOPPEMENT D'*ASPERGILLUS FLAVUS*

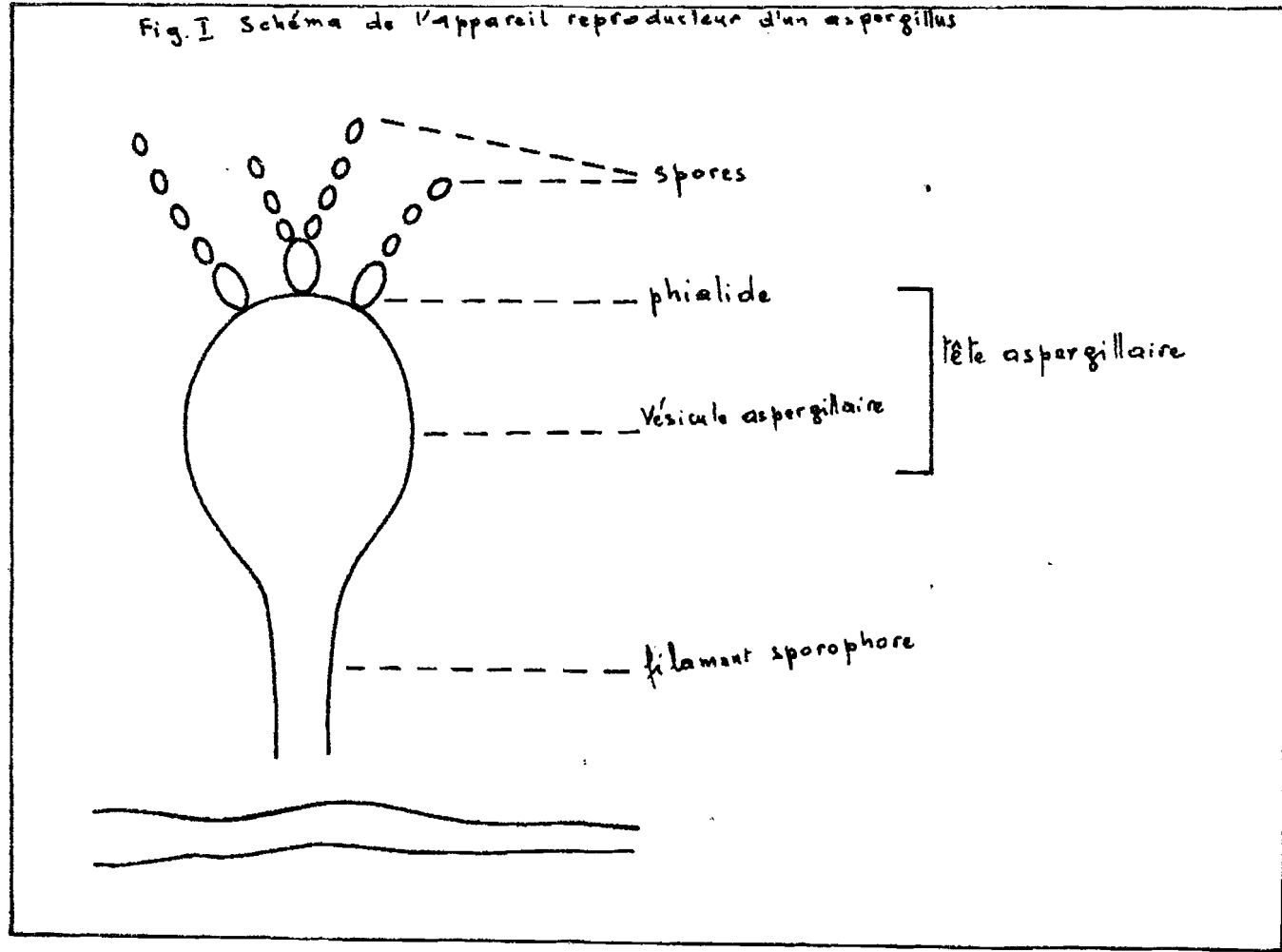
Ce développement est régi par un certain nombre de facteurs physiques et chimiques.

1.1.1. - FACTEURS PHYSIQUES

1.1.1.1. - TENEUR EN EAU DU SUBSTRAT - HUMIDITE RELATIVE

A. flavus a besoin d'eau pour se développer correctement. Ce besoin en eau est variable suivant la nature du substrat sur lequel est placée la moisissure. C'est ainsi que pour les graines d'arachide, l'optimum de croissance est obtenu avec un taux d'humidité de 10 % alors qu'il est de 20 % pour les tourteaux et farine.

Mais c'est l'humidité relative (H.R.), bien plus que la teneur en eau du substrat, qui est déterminante dans le développement d'*A. flavus*. Il faut au minimum 80 % d'H.R. avec un optimum à 85 %. Ce qui classe cette moisissure dans le groupe des champignons mésophiles à côté d'autres espèces du genre *Aspergillus* telles que *A. ochraceus*, *A. nidulans* et *A. fumigatus*; et du genre *Penicilium* telles que *P. expansum*, *P. viridicatum* et *P. cyclopium* (62).



-6-

Fig

1.1.1.2. - LA TEMPERATURE

Elle constitue, avec l'humidité relative, l'un des facteurs les plus importants de la croissance d'*A. flavus*. Ce dernier peut se développer à des températures variables, entre 10°C et 45°C environ, avec un optimum à 25-30°C (67).

1.1.1.3. - LA COMPOSITION DE L'ATMOSPHERE

Comme bon nombre de moisissures, *A. flavus* est aérobic stricte ; c'est ainsi que lors de stockage en atmosphère confinée avec des teneurs en gaz carbonique supérieures à 10 %, on note une inhibition marquée de son développement (57).

1.1.1.4. - LA NATURE DU SUBSTRAT

Le milieu de culture doit être très hydrophile créant ainsi une atmosphère immédiate avec une humidité relative adéquate.

1.1.2. - FACTEURS CHIMIQUES

1.1.2.1. - COMPOSITION CHIMIQUE DU SUBSTRAT

Comme tout être vivant, *A. flavus* a des besoins en éléments énergétiques et plastiques pour se développer. Il faudra donc, nécessairement, qu'il trouve ces éléments dans le substrat sur lequel il se trouve.

Plusieurs milieux de cultures ont été fabriqués. Le milieu de CZAPECK, avec plus ou moins de modifications, est actuellement le plus utilisé.

COMPOSITION DU MILIEU DE CZAPECK

Na NO ₃	3 g
K ₂ H PO ₄	1 g
Mg SO ₄ , 7 H ₂ O	0,5 g
K cl	0,5 g
Fe SO ₄ , 7 H ₂ O	0,01 g
Saccharose	100 g
Extrait de levure	2 g
Eau distillée	1000 ml

On peut ajouter à 400 ml de ce milieu 100 g de saccharose, ou mieux 50 g de saccharose plus 30,5 g d'acide citrique pour favoriser et la production d'aflatoxine et la production mycélienne (67).

1.1.2.2. - LE PH

Le pH initial du milieu de culture est important à considérer. En effet, la croissance d'*Aspergillus flavus* est très réduite à pH très acide (inférieur à 3) comme à pH légèrement basique (environ 7,5) ; l'optimum de développement se situe entre pH 4 et 6 (67). Il convient de souligner que si toutes les conditions de croissance de la moisissure et de synthèse d'aflatoxine sont remplies, il y a un parallélisme constant entre la production d'aflatoxine et celle du mycélium.

1.2. - CONDITIONS DE TOXINOGENESE

Nous soulignerons, tout d'abord, deux points importants :

- Le premier est que de nombreuses souches d'*A. flavus* ne sont pas capables d'élaborer des toxines. Ce qui a fait dire à PAYEN J. que "c'est un abus, pour ne pas dire une toxophobie, d'écrire qu'*A. flavus* est toxigène puisque statistiquement 60 % des souches ne le sont pas" (77).

- Le second point est qu'à côté d'*A. flavus* d'autres moisissures produisent des aflatoxines (voir tableau I). Mais en pratique les espèces *A. flavus* et *A. parasiticus* sont considérées comme les plus dangereuses.

La toxinogénèse, tout comme le développement de *A. flavus*, est influencée par divers facteurs de l'environnement tels que l'humidité, la température et la composition chimique du substrat. Cependant les facteurs microécologiques favorables au développement de la moisissure toxigène peuvent ne pas être obligatoirement les mêmes que ceux nécessaires à la production des toxines.

Tableau n° 1 - QUELQUES FONGI PRODUISANT DE L'AFLATOXINE IN VITRO

FONGUS	AFLATOXINES			
	B1	B2	G1	G2
<u>GENRE ASPERGILLUS</u>				
<i>A. flavus</i> (a)	X	X	X	X
<i>A. oryzae</i> (a)	X	X	X	X
<i>A. parasiticus</i> (a)	X	X	X	X
<i>A. terricola</i> (b)	X			
<u>GENRE PENICILLIUM</u>				
<i>P. puberulum</i> (a)	X	X	X	X

(a) : GOLDBLATT L.A. (46)

Sources :

(b) : MOUBASHER et coll. (71)

1.2.1. - INFLUENCE DE LA TEMPERATURE

Selon DIENER et DAVIS (34), si *A. flavus* peut se développer dans la fourchette de températures comprises entre 10 et 45°C, la toxino-génèse n'est possible qu'entre 15 et 40°C avec une production optimum à 30 - 35°C. D'autres auteurs situent cet optimum à 25-30°C (67).

Par ailleurs, une température relativement élevée augmente la synthèse d'aflatoxine B₁. En portant à incuber des arachides ensemencées avec *A. flavus* à des températures de 20 et 30°C, le dosage des quantités de toxines produites au bout de 9 et 21 jours, donne les résultats suivants (tableau II).

Tableau II : CONCENTRATION D'AFIATOXINES EN FONCTION DE LA TEMPERATURE ET DE LA DUREE D'INCUBATION

DUREE (J)	TEMPERATURE (°C)	AFIATOXINES (microg. pour 100)			
		B ₁	G ₁	B ₁ + G ₁	B ₁ / G ₁
9	20	45	400	445	0,11
	30	1 840	4 000	5 840	0,46
21	20	460	4 000	4 460	0,11
	30	5 750	10 000	15 750	0,57

Source : DIENER et DAVIS (33)

1.2.2. - INFLUENCE DU SUBSTRAT

D'après JEMMALI (57), la synthèse d'aflatoxine est minimum sur les produits d'origine animale, même avec une bonne croissance de la moisissure. Le danger porte donc essentiellement sur les produits et sous-produits végétaux. D'autre part, la toxino-génèse est stimulée lorsque *A. flavus* passe d'un milieu pauvre à un milieu riche.

Tableau n° 111

INFLUENCE DE L'ATMOSPHERE SUR LE METABOLISME D'A. *FLAVUS* SE
 DEVELOPPANT SUR DES GRAINES FRAICHES D'ARACHIDES MAINTENUES
 A 30°C.

NATURE DE L'ATMOSPHERE (°)		ACIDE GRAS LIBRE	PRODUCTION D'AFLATOXINES				
(pour 100)		(pour 100)	(microg./g)				
			B1	B2	G1	G2	total
INFLUENCE DE LA DIMINUTION DE L'OXYGENE							
<u>CO2</u>	<u>O2</u>						
0,03	21	57	200	96	168	48	512
0	15	57	213	93	172	41	519
0	10	54	145	31	122	18	316
0	5	53	63	23	53	15	154
0	1	17,5	3	1	2	0	6
INFLUENCE DE L'AUGMENTATION DU GAZ CARBONIQUE							
<u>CO2</u>	<u>O2</u>	57	154	68	43	34	299
20	20	48	38	17	11	8	74
40	20	37	13	10	11	2	35
60	20	26	5	7	4	3	20
80	20	13	0	0	0	0	0
(°) - Les modifications de l'atmosphère se font au profit ou aux dépens de l'azote.							

Source : LANDERS et coll. (61)

1.2.3. - INFLUENCE DE L'ATMOSPHERE

Cette influence a été particulièrement bien étudiée par LANDERS et coll. (61) sur des graines d'arachide ensemencées avec *A. flavus* et maintenues à 30°C (tableau III page 11). Les résultats obtenus ont montré la plus grande efficacité de l'augmentation du gaz carbonique (CO₂) sur la diminution de l'oxygène (O₂) de l'atmosphère intergranulaire dans l'inhibition de la croissance et de la synthèse de toxines chez *A. flavus*.

1.2.4. - INFLUENCE DU PH

Tout comme pour sa croissance, *A. flavus* synthétise plus de toxines à un pH acide ; la production optimum s'effectue entre les pH 4 et 6 (67).

1.2.5. - INFLUENCE DE LA LUMIERE

A. flavus a un comportement variable selon les souches étudiées. On admet généralement que la lumière gêne la production d'aflatoxines, cependant certaines souches synthétisent plus de toxines lorsqu'elles sont éclairées que lorsqu'elles sont placées dans l'obscurité (67).

L'étude des facteurs de croissance et de toxinogénèse d'*A. flavus* permet de comprendre pourquoi, bien que rencontrée dans toutes les régions du globe, aussi bien tempérées que tropicales, cette moisissure est plus dangereuse dans ces dernières où les conditions naturelles de température et d'humidité sont plus favorables à son développement et à la production de ses toxines.

La connaissance de l'influence de ces facteurs débouche, par ailleurs, sur un certain nombre d'actions préventives pour empêcher ou, tout au moins, limiter la contamination des produits agricoles des pays tropicaux. En effet, il s'est révélé très tôt que, outre l'arachide et ses dérivés, plusieurs autres produits alimentaires peuvent être naturellement contaminés. (Voir tableau n° IV de la page suivante)

Tableau n° IV - MATIERES ALIMENTAIRES DANS LESQUELLES ONT ETE DETECTEES
DES AFLATOXINES

Céréales	Autres productions végétales	Productions animales
MIL	ARACHIDE	
SORGHO	COTON	
MAIS	SOJA	LAIT
RIZ	SESAME	FROMAGES
BLE	COPRAH	
ORGE	NOIX DE PALME	
<u>TUBERCULES</u>		
MANIOC	HARICOTS ET POIS	
PATATE DOUCE	CAFE	
TARO	CACAO	

Source : ADRIAN et coll. (4)

11° - ETUDE DE LA TOXINE

Dès que le facteur toxique secrété par *A. flavus* fut obtenu en quantité suffisante par isolement et purification, les chercheurs se mirent à étudier ses propriétés physiques, chimiques et biologiques, et à mettre sur pied des méthodes de dosage.

11.1. - PROPRIETES PHYSIQUES

Les aflatoxines cristallisent en aiguilles jaunes ou incolores si la purification est suffisante.

11.1.1. - SOLUBILITE

Elles sont solubles dans un certain nombre de solvants organiques dont les plus intéressants sont le méthanol, le chloroforme et l'acétone.

Ces solvants seront alors utilisés soit seuls, soit diversement associés dans l'extraction de ces toxines. C'est ainsi que dans le procédé standard de dosage du Tropical Products Institute, seul le chloroforme est utilisé, alors que dans celui proposé par DE LONGH et coll. l'extraction se fait par le système chloroforme-méthanol (58).

11.1.2. - FLUORESCENCE EN LUMIERE ULTRA-VIOLETTE

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

Le terme général d'"aflatoxine" regroupe donc 4 composantes majeures, B₁, B₂, G₁ et G₂.

La mesure de l'intensité de fluorescence obtenue par rapport à celle d'un étalon est à la base du dosage physico-chimique de ces toxines.

11.1.3. - AUTRES CARACTERES PHYSIQUES

Ils sont résumés au tableau V ci-dessous

Tableau n° V - PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DES QUATRE AFLATOXINES MAJEURES

	A F L A T O X I N E S			
	B ₁	B ₂	G ₁	G ₂
Poids moléculaire	312	314	328	330
Température de fusion	268-269	286-289	244-250	237-240
Pouvoir rotatoire	- 560	- 465	- 545	- 475
Fluorescence en ultra-violet	Bleu ou Bleu pourpre violet	Bleu violet	verdâtre ou jaune verdâtre	jaune verdâtre
Reference-front (Rf)	entre 0,7 et 0,55		légèrement moindre que celui des B	

Source : ADRIAN et coll. (4)

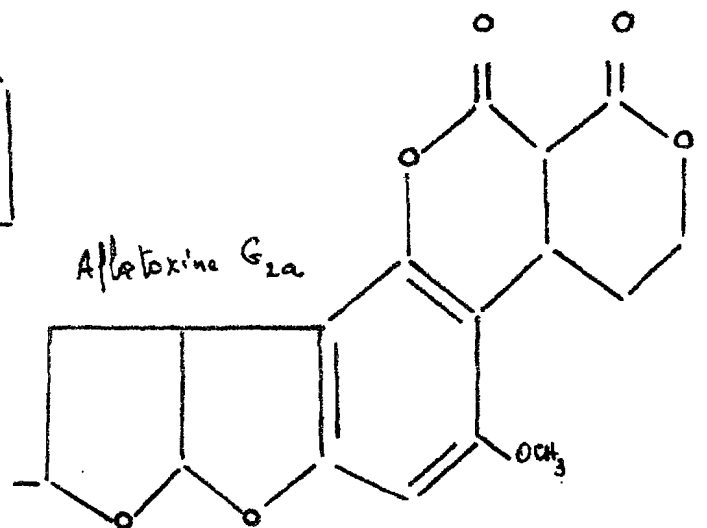
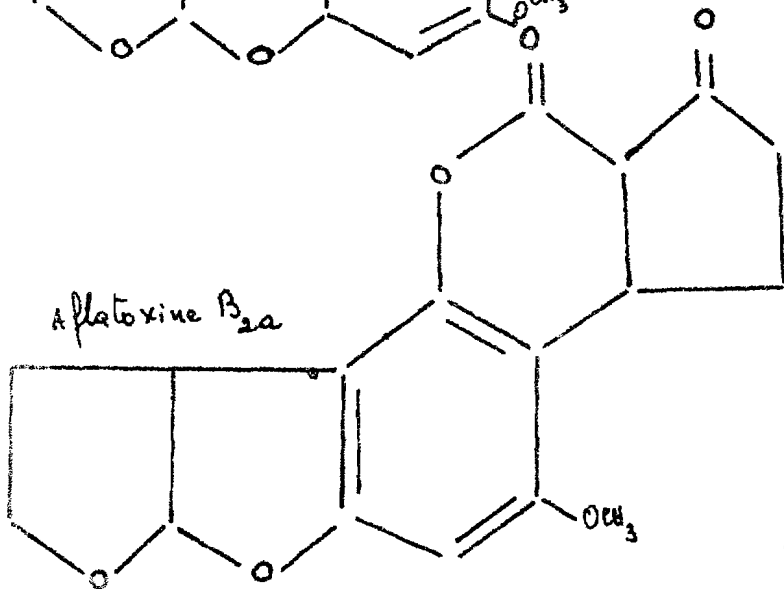
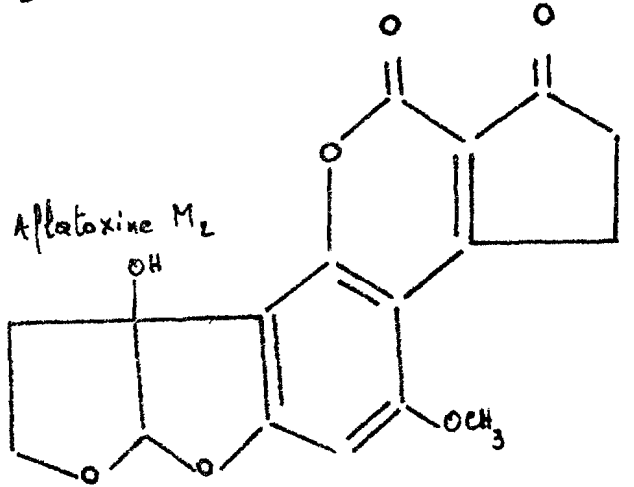
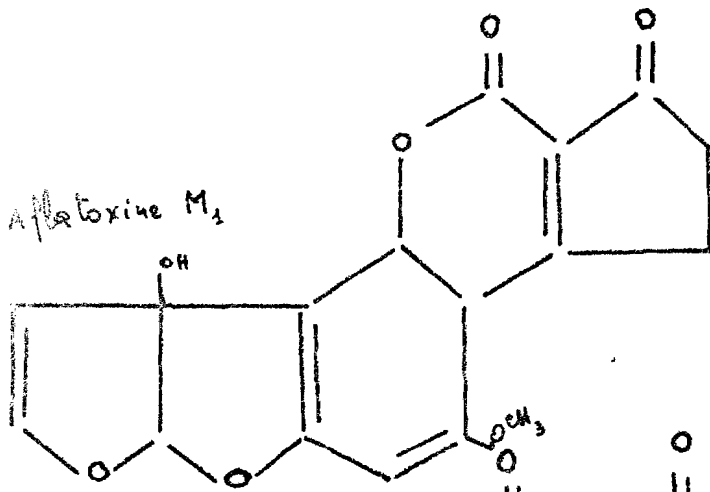
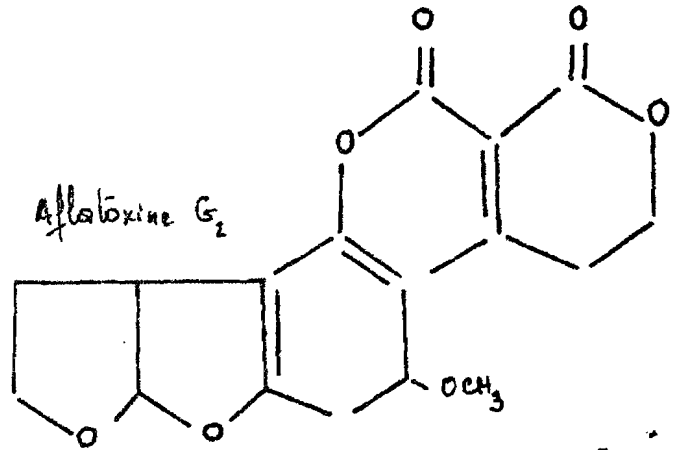
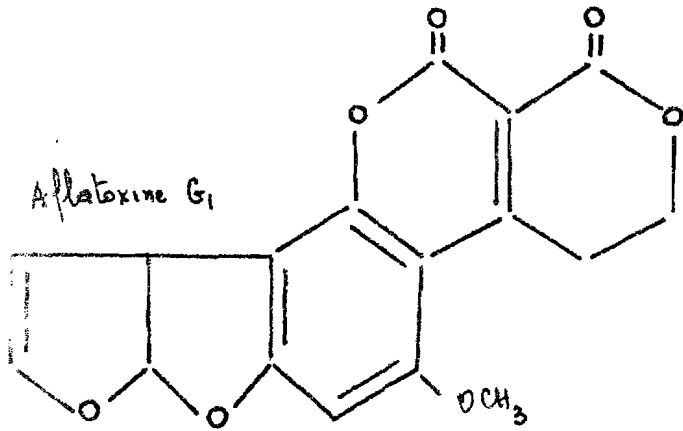
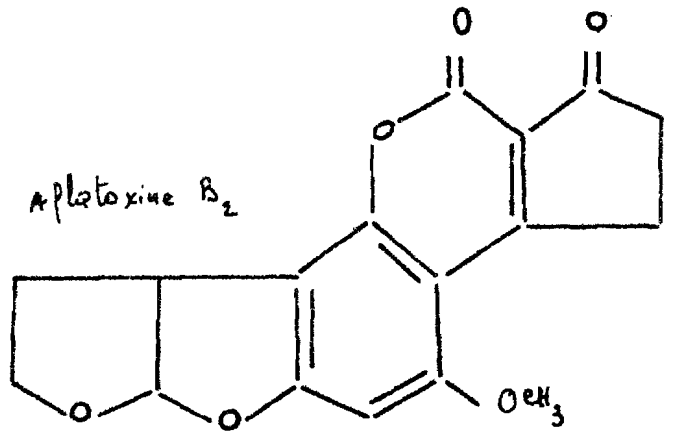
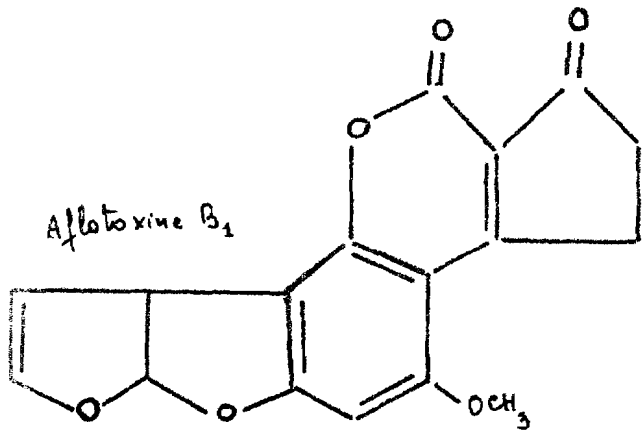
11.2. - PROPRIETES CHIMIQUES

11.2.1. - STRUCTURE CHIMIQUE

Dès 1964, ASAO et coll. (10) établirent la structure des aflatoxines B₁ et G₁. Ils en déduisirent par la suite, celles de B₂ et G₂ après les travaux CHANG et coll. qui avaient montré une année plus tôt que ces dernières étaient les dérivés dihydrogénés respectifs des premières. Les structures chimiques de ces quatre aflatoxines et de leurs dérivés sont représentées dans le tableau VI de la page suivante.

Les aflatoxines de type "B" sont caractérisées par un dernier noyau pentacyclique carboné alors que dans celles de type "G", ce noyau est hétérocyclique et hétérogène avec un atome d'oxygène supplémentaire. Dans chaque type "B" ou "G"

Tableau VI - structure chimique des aflatoxines et de leurs dérivés



on distingue 2 composantes affectées d'un indice "1" ou "2" suivant le degré de saturation du premier noyau qui est de nature furfurolique dans les composés portant l'indice "1", avec une double liaison qui est hydrogénée dans la série affectée de l'indice "2".

Le niveau de toxicité est en relation avec certaines particularités de la structure chimique des aflatoxines. L'hydrogénation de la double liaison sur le noyau furfurolique réduit la toxicité. C'est ainsi que l'aflatoxine B₁ est 10 fois plus toxique que l'aflatoxine G₂.

Tableau VII - DOSE LETHALE 50 des aflatoxines pour le caneton

		DL 50 pour le caneton de 50 g
Aflatoxine	B ₁ . .	18,2 microg.
"	B ₂ . .	84,8 "
"	B ₁ . .	39,2 "
"	B ₂ . .	172,5 "

Source : CARNAGHAN et coll. (27)

11.2.2. - REACTIONS CHIMIQUES

Elles sont importantes à considérer en vue de la détoxification des produits contaminés. Dans cette optique, seules les réactions avec les alcalins sont d'un intérêt pratique.

En effet, dans une solution alcaline, il se produit une hydrolyse de la molécule d'aflatoxine par ouverture du noyau portant le lactone, mais cette réaction est réversible car la recyclisation s'opère dès que le milieu est acidifié (55).

Cependant à des températures de l'ordre de 100°C, il se produit une ouverture du cycle et la réaction peut se poursuivre jusqu'à la perte du groupement méthoxyli. Des réactions de ce genre semblent se produire avec l'ammoniac et divers autres amines.

III° - METHODES DE DOSAGE

Le dosage des aflatoxines dans les aliments est une opération très importante. Les résultats obtenus vont en effet déterminer, en fonction de la réglementation en vigueur dans un pays, l'attitude à prendre vis-à-vis de l'aliment concerné. Ceci est particulièrement important dans les transactions commerciales.

Plusieurs méthodes de dosage ont été mises au point et permettent de distinguer deux grands groupes :

- ° Les méthodes physico-chimiques
- et
- ° Les méthodes biologiques

III.1. - LES METHODES PHYSICO-CHIMIQUES

Ces méthodes sont basées sur l'évaluation de l'intensité de la fluorescence d'un extrait de l'échantillon à analyser après la séparation des aflatoxines par chromatographie. La chromatographie peut se faire soit sur papier, soit sur couche mince de gel.

III.1.1. - CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER

C'est une ancienne méthode qui a été utilisée pour la première fois par les chercheurs du Tropical Products Institute. Elle est inusitée ; aussi, nous ne la décrivons pas.

III.1.2. - CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (C.C.M.)

Elle a l'avantage d'être plus rapide que la chromatographie sur papier et de permettre une séparation nette des quatre aflatoxines majeures B₁, B₂, G₁ et G₂ lorsque la plaque chromatographique est observée en lumière ultra-violette.

Elle se fait sur une mince couche de gel

La mise en oeuvre de cette méthode de dosage nécessite un certain nombre d'opérations préalables (58) :

- 1 - Echantillonnage sur lequel nous reviendrons
- 2 - Dégraissage, est nécessaire si la substance à analyser contient plus de 5 % de matières grasses
- 3 - Extraction de la toxine par un solvant approprié
- 4 - Purification de l'extrait pour éviter toute interférence possible avec d'autres matières fluorescentes.

Ce n'est qu'après ces différents temps opératoires qu'on pourra effectuer le dosage proprement dit des toxines puis compléter par un test de confirmation chimique pour différencier sans ambiguïté l'aflatoxine des autres matières fluorescentes pouvant se présenter.

Selon la nature de la matière à analyser, on peut être quelques fois amené à omettre certaines opérations inutiles ou au contraire à effectuer d'autres opérations supplémentaires du fait de la présence d'éléments spécifiques qui peuvent interférer avec les aflatoxines tels que le gossypol de la graine de coton et la théobromine du cacao.

De nombreuses méthodes d'analyse ont été décrites pour la détermination des aflatoxines dans les aliments du bétail et de l'homme. Cependant beaucoup d'entre elles découlent, en réalité de deux méthodes de base, avec des modifications mineures, adaptées aux produits ou aux problèmes locaux.

Nous ne décrivons que les deux techniques de base utilisables pour le dosage de l'aflatoxine de l'arachide : la méthode standard du Tropical Products Institute et la méthode "Best-Foods" ("B.F."), et une seule technique applicable à la graine de coton (Cottonseed method).

Ce choix s'explique pour plusieurs raisons. C'est que, vu le grand nombre de méthodes décrites à travers le monde, il nous est impossible de les passer toutes en revue ici. D'autre part, au Sénégal, la nécessité du dosage de ces toxines ne s'est faite sentir que pour les arachides ; cependant, on devine aisément que ce besoin s'étendra à la graine de coton dont la production ne cesse de croître ce qui augure une utilisation de plus en plus importante dans les rations du bétail avec possibilité d'exportation.

III.1.2.1. - PROCEDE STANDARD DU TROPICAL PRODUCTS INSTITUTE

III.1.2.1.1. - DEGRAISSAGE

Elle se fait à l'héxane dans un soxhlet pendant 4 heures avec une vitesse de siphonnement de 10-12 passages à l'heure.

III.1.2.1.2. - EXTRACTION

Le chloroforme est le solvant utilisé. On agite automatiquement pendant 30 minutes puis on filtre à l'aide d'un papier filtre Whatman n° 1 ou mieux à travers une couche de terre de diatomées.

III.1.2.1.3. - PURIFICATION

On élue les plaques chromatographiques, sur lesquelles est déposée une goutte (un "spot") de l'extrait à analyser, dans le diéthyl-éther avant migration dans un solvant adapté à la chromatographie des aflatoxines. Ceci permet de diriger vers le front du diéthyl-éther certaines impuretés présentes dans l'extrait et le silica-gel ainsi que toutes les matières grasses résiduelles présentes dans l'extrait.

III.1.2.1.4. - DOSAGE

Différentes méthodes de détermination du taux des aflatoxines sont appliquées. Nous y reviendrons après l'étude générale des 3 techniques ci-dessus indiquées.

III.1.2.2. - LA METHODE "B.F."

Tout comme la méthode précédente, elle a été mise au point pour la détermination de l'aflatoxine dans l'arachide. Elle est rapide et permet une économie de solvants appréciable.

III.1.2.2.1. - EXTRACTION ET DEGRAISSAGE

L'extraction et le dégraissage de l'échantillon se font simultanément à l'aide d'un système biphasique, méthanol aqueux-hexane.

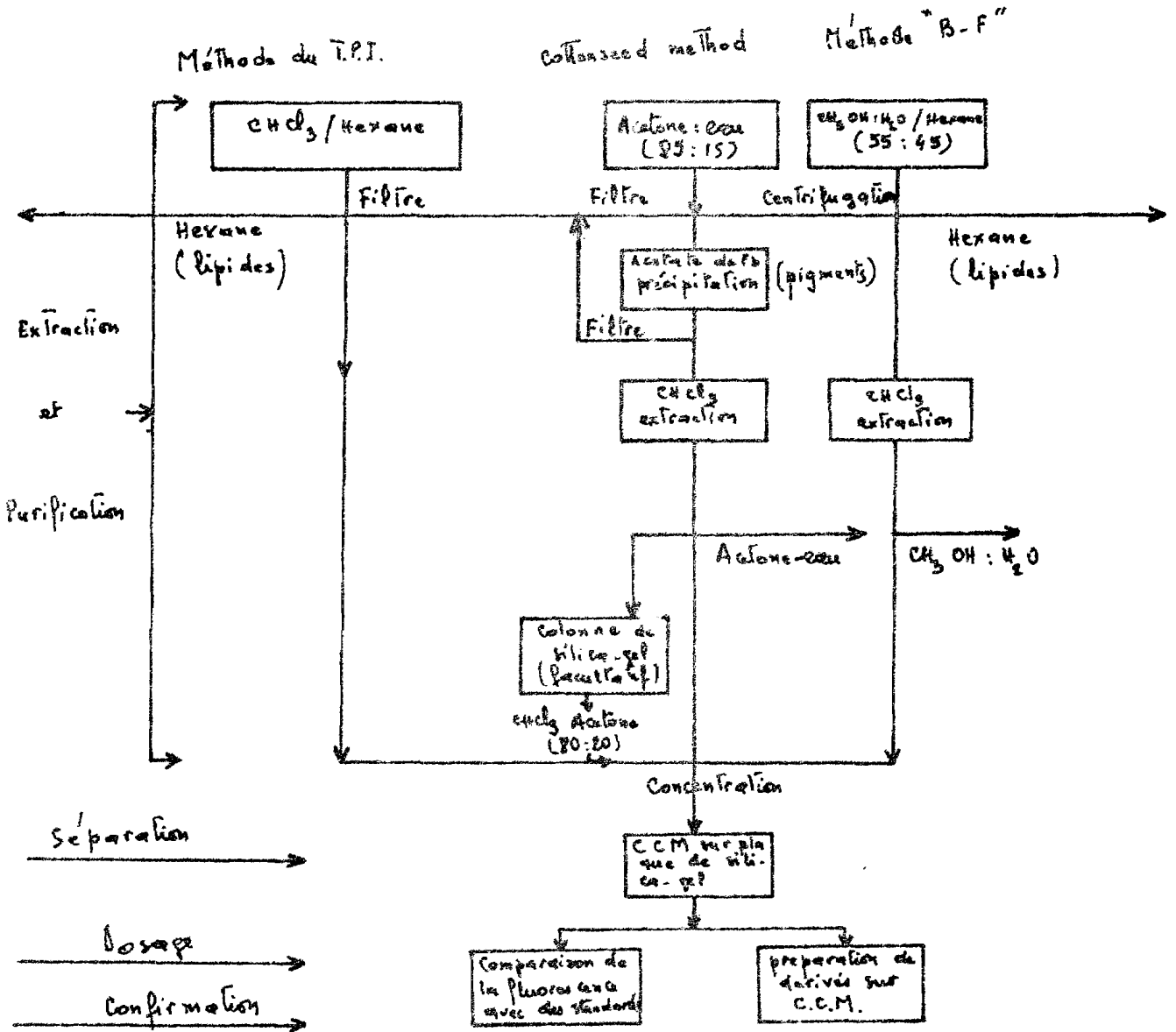


Tableau VIII Diagramme de trois méthodes de dosage des aflatoxines

III.1.2.2.2. - PURIFICATION

Elle se fait automatiquement puisque l'aflatoxine est déplacée par le chloroforme, les pigments et les lipides se trouvant dans le mélange méthanol-hexane.

III.1.2.3. - METHODE APPLICABLE A LA GRAINE DE COTON (COTTONSEED METHOD)

Ici, l'extraction et le dégraissage se font avec un solvant polaire acétone-eau puis on ajoute de l'acétate de plomb pour précipiter les pigments et les aflatoxines sont par la suite extraites par le chloroforme par chromatographie sur colonne de silica-gel.

Le schéma de toutes ces méthodes est représenté au tableau VIII de la page **21.**

III.1.2.4. - DOSAGE PROPREMENT DIT DES AFLATOXINES PAR LA C.C.M.

Trois groupes de techniques peuvent être utilisées :

- Dans le premier groupe, les extraits contenant la toxine peuvent être dilués ou concentrés en série jusqu'à ce que la tache fluorescente de l'aflatoxine commence à être visible dans les dépôts d'extraits chromatographiés lorsque la plaque chromatographique est observée en lumière ultra-violette. En partant de la plus faible des quantités de chacun des métabolites produisant une fluorescence visible en lumière ultra-violette lorsque examinée dans des conditions normalisées, on peut calculer la concentration dans l'extrait. Cette méthode manque de précision et est en passe d'être démodée.

- Dans le second groupe, des concentrations connues d'étalons d'aflatoxines pure^s sont chromatographiées parallèlement aux dépôts d'extrait. Les intensités de fluorescence des taches sur les chromatogrammes élués sont comparées optiquement. Il faut noter que cette comparaison optique ne permet de distinguer que des différences d'intensité de dépôts d'au moins 20 %, un oeil normal ne pouvant dépasser cette précision. Le coefficient de variation de cette estimation visuelle peut atteindre 28 % (13).

Dans le troisième groupe, l'intensité des taches fluorescentes est comparée à celle des étalons à l'aide d'un fluorimètre ou d'un analyseur de plaques. Malgré la charge financière supplémentaire que cette méthode occasionne, elle est préférable à la précédente du fait de sa plus grande objectivité.

Toutes ces méthodes nécessitent d'une part une constante vérification de l'identité, de la pureté et de la concentration des étalons utilisés et d'autre part, il est toujours conseillé de faire un test de confirmation complémentaire pour être sûr que les taches fluorescentes observées sont réellement dues à l'aflatoxine.

III.1.2.5. - TEST DE CONFIRMATION

La présence possible de composés présentant une fluorescence et un comportement chromatographique comparables à ceux des aflatoxines fait que des tests complémentaires de confirmation sont nécessaires. Ceci est particulièrement vrai lorsqu'on dose des aflatoxines dans des denrées inhabituelles ou lorsque la preuve de l'identité est nécessaire pour des raisons légales ou autres.

ANDRELLOS et REID (9) sont les premiers à mettre au point un test de confirmation pour les aflatoxines B1 et G1, en utilisant la fonction éther enol du noyau difuranne. Les réactifs utilisés sont le mélange acide acétique-chlorure de thionyl et l'acide trifluoroacétique qui donne respectivement un acétate dimérique et un dérivé hydraté de l'aflatoxine (Aflatoxine B2a). Le comportement chromatographique des dérivés de l'extrait de même que leur fluorescence sont comparés à ceux d'étalons d'aflatoxine ayant subi les mêmes traitements.

POHLAND et coll. (82) simplifièrent la préparation de l'acétate en utilisant de l'acide chlorhydrique et de l'anhydride acétique et pour la formation de l'aflatoxine B2a, l'acide chlorhydrique.

PRZYBYLSKI (85) améliorera plus tard le test d'Andrellos pour l'aflatoxine B2a en formant le dérivé directement sur le dépôt initial de la plaque chromatographique. Le dépôt est traité par l'acide trifluoroacétique qui est ensuite éliminé par évaporation. Le chromatogramme est développé et examiné sous la lumière ultra-violette. On peut, en plus, vaporiser la plaque d'une solution d'acide sulfurique au 1/3. Les taches obtenues virent du bleu au **jaune**.

Ce test n'est cependant pas spécifique. Il ne peut confirmer que l'absence d'aflatoxine : les taches qui ne virent pas au jaune ne sont pas, à coup sûr, de l'aflatoxine.

Toutes ces trois méthodes de confirmation ont été adoptées par l'Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C.).

III.1.2.6. - RESULTATS

La multitude des méthodes de dosages physico-chimiques avec des sensibilités différentes pose déjà un problème de valeur des résultats obtenus suivant qu'un pays reconnaît ou non une méthode donnée comme fiable. Même avec une même technique, les résultats seront fonction de la précision des appareils utilisés, de la technicité du personnel de laboratoire qui a fait l'analyse, etc... C'est ainsi que les résultats d'une analyse circulaire de farine d'arachide par 18 laboratoires peuvent présenter un coefficient de variation de plus de 90 % (voir tableau ci-dessous).

Tableau IX - RESULTATS STATISTIQUES D'UNE ANALYSE CIRCULAIRE DE 2 ECHANTILLONS DE FARINE D'ARACHIDE PAR 18 LABORATOIRES

	ECHANTILLON 1					ECHANTILLON 2				
	B1	B2	G1	G2	total	B1	B2	G1	G2	total
Moyenne	27,3	4,7	15,8	3,4	51,2	407,8	9,8	411,7	0,5	830,0
Ecart - Type	16,1	4,3	9,7	2,3	28,0	380	8,3	387	1,3	760
Intervalle de confiance	3,8	1,0	2,3	0,5	6,6	105	2,3	107	0,4	211
Coefficient de variation	58,9	90,8	61,5	67,8	54,6	93,2	84,8	94,0	266	91,6

Source : J.D. Mc KINNEY and G.C. CAVANAGH (68).

Ceci montre la nécessité de la mise sur pied de vastes programmes tels que celui de l'American Oil Chemists' Society (68) pour amener les laboratoires, qui s'écartent trop des résultats obtenus par les autres au cours de tests d'analyse circulaire, à améliorer leurs techniques de dosage. Il faut aussi organiser des stages de perfectionnement des techniciens, du tiers-monde en particulier, pour leur permettre de mieux maîtriser les techniques et instruments de dosage.

A côté des méthodes de dosage physico-chimiques, il existe des méthodes qui étudient les effets déterminés par les aflatoxines dans des systèmes cellulaires variés. Ce sont les méthodes de dosages biologiques.

III.2. - TESTS BIOLOGIQUES

Ce sont les premiers à être utilisés pour la détermination des aflatoxines dans les aliments. Plusieurs organismes sont utilisés comme réactifs biologiques.

III.2.1. - UTILISATION DU CANETON COMME REACTIF BIOLOGIQUE

C'est la première méthode qui a été mise au point (27). Du fait de sa sensibilité particulière, le caneton d'un jour a été utilisé. Après inoculation d'un extrait concentré de matières suspectes, on évalue sa concentration en aflatoxine d'après les détériorations causées au foie, en particulier l'hyperplasie des canalicules biliaires, après une période de 7 jours.

Ce test est aussi utilisé pour le dosage de l'aflatoxine M1 du lait et de ses dérivés (86). Cependant, c'est une méthode, tout au plus, semi-quantitative (96). La plus faible dose pouvant entraîner des lésions visibles est de 0,4 microg./ pendant 5 jours.

III.2.2. - TEST UTILISANT L'EMBRYON DE POULET

De toutes les méthodes biologiques actuelles, ce test semble le plus intéressant. La méthode est reproductible et des lésions typiques avec arrêt du développement embryonnaire entre le 8e et 10e jour sont observées avec moins de 0,1 microg./ oeuf. Les résultats obtenus correspondent à 100 % avec ceux des tests de confirmation chimique (94).

III.2.3. - TEST UTILISANT LES BACTERIES

Du fait de la sensibilité de certaines souches bactériennes (*B. brevis*, *B. megaterium* (21)), des techniques de dosage basées sur la mesure des zones d'inhibition ont été imaginées. Mais, elles se sont révélées être peu reproductibles après une analyse circulaire effectuée par plusieurs laboratoires (28).

Ces tests biologiques sont, de toute évidence, trop longs (plusieurs jours) pour l'analyse de routine des aliments telles que celle qu'exige un programme de contrôle de qualité (58). Ils ne pourront être entrepris qu'en cas d'expertise pour trancher un différent. Dans ce cas, le test utilisant l'embryon de poulet est plus indiqué du fait de sa plus grande reproductibilité et sa plus grande sensibilité.

Mais quelque soit la sensibilité de la méthode de dosage (chimique ou biologique), la précision de l'essai pour la détermination de l'aflatoxine dans l'aliment dépend, pour une large part de l'échantillonnage.

IV° - ECHANTILLONNAGE DES ALIMENTS

L'échantillonnage est sans nul doute le plus important facteur de variation des dosages d'aflatoxine dans les produits agricoles.

La difficulté d'échantillonner des aliments de nature particulière (arachide, céréales, etc...) provient de la faible proportion normalement contaminée des graines d'un lot. Près de 4 pour 100 d'un lot d'arachide peuvent contenir 40 pour 100 de toute l'aflatoxine du lot (16). Et des taux de près de 1 000 000 de microg./kg ont été retrouvés dans quelques graines (30). Dès lors, en échantillonnant, on peut "tomber" soit sur des graines relativement saines et conclure que le lot est bon alors que sa teneur moyenne en aflatoxine est élevée, soit au contraire, avoir un échantillon très toxique et rejeter en conséquence un lot dont la teneur moyenne réelle en toxine est admissible.

Dans le premier cas, c'est le consommateur qui court des risques alors que dans le second, c'est le producteur qui est lésé.

Cette grande hétérogénéité des lots de graines explique la difficulté de l'échantillonnage particulièrement lorsqu'il s'agit de déterminer la teneur moyenne de centaines de tonnes.

Plusieurs études théoriques ont été faites sur la distribution de l'aflatoxine dans les denrées agricoles et, confrontées à des études pratiques sur les récoltes, ont abouti à la mise au point d'un instrument de comparaison entre différents systèmes d'échantillonnage (91,97).

Des études de ce genre mériteraient d'être entreprises dans nos pays, au niveau des pays membres du Conseil Africain de l'Arachide (C.A.A.) par exemple.

Les paramètres sur lesquels il est possible d'agir pour améliorer la représentativité de l'échantillonnage sont les suivants (84) :

- Augmentation du nombre d'échantillons
- Augmentation de la taille de l'échantillon
- Augmentation du nombre d'analyses effectuées sur un même échantillon.

Dans le cadre des transactions commerciales, les parties concernées doivent donc s'entendre sur une méthode d'échantillonnage, celle-ci étant à l'heure actuelle la principale source de variation des résultats de dosage des aflatoxines.

Tous ces efforts fournis pour améliorer les méthodes de dosage et d'échantillonnage visent essentiellement à retirer de la consommation humaine ou animale des produits relativement dangereux. Ceci s'explique par les effets physio-pathologiques des aflatoxines chez de nombreuses espèces animales et les risques qu'elles constituent chez l'homme.

II^e P A R T I E

LE DANGER REPRESENTÉ PAR LES AFLATOXINES
CHEZ LES ANIMAUX ET CHEZ L'HOMME

I - MANIFESTATIONS DE TOXICITE CHEZ LES ANIMAUX

La sensibilité des animaux est variable avec l'espèce et l'âge.

Les oiseaux sont les plus sensibles, en particulier le canard et le dindon ; le poulet est relativement résistant.

Mis à part le porc qui a une sensibilité comparable à celle du canard, les mammifères sont très résistants, surtout le mouton et la souris, bien que pouvant présenter des lésions hépatiques. (5).

On peut classer ces manifestations en toxicité aigüe et toxicité chronique.

I - 1 - TOXICITE AIGUE

On rencontre cette forme chez des sujets très sensibles - canetons, dindonneaux par exemple - ayant consommé une dose massive d'aflatoxine.

Les symptômes sont nets quelques heures avant la mort : les oiseaux sont déprimés, immobiles. On note une perte d'appétit. Des manifestations nerveuses et de l'ascite ne sont pas rares (95).

Les lésions portent essentiellement sur le foie qui est décoloré avec, à sa surface, des taches hémorragiques et biliaires.

A l'examen histologique, on observe une nécrose massive du parenchyme hépatique dont les cellules ne sont plus identifiables. Ça et là, une néocanalogénèse formant des rosettes de cellules basophiles va s'organiser (14,95).

I - 2 - TOXICITE CHRONIQUE

L'intoxication chronique se produit soit lorsque des espèces sensibles consomment des quantités infimes d'aflatoxine pendant un laps de temps prolongé, ou quand des espèces peu sensibles ingèrent des doses relativement élevées sans présenter les signes de l'intoxication aigüe.

Selon les lésions observées au niveau du foie, on peut distinguer des manifestations non cancéreuses et des manifestations cancéreuses.

1-2-1 - MANIFESTATIONS NON CANCEREUSES

Elles se traduisent par une baisse plus ou moins marquée des performances zootechniques :

- baisse de la croissance chez les bovins (8,76)
- baisse de la production laitière chez la vache (8)
- et chez la poule pondeuse : baisse du nombre d'oeufs pondus, du poids et du taux d'éclosion (53).

A l'autopsie, on note des phénomènes hémorragiques et exsudatifs chez le poulet (14). Tandis que chez le porc adulte le volume hépatique est normal, mais le tissu hépatique reste spongieux. L'ascite et l'ictère apparaissent souvent (87).

L'examen histologique montre surtout une néocanalogue discrète. La nécrose des hépatocytes peut être absente (volailles) (14) ou relativement intense (porc, bovins) (8,87).

1-2-2 - MANIFESTATIONS CANCEREUSES

Les manifestations cancéreuses représentent une deuxième forme d'évolution chronique de l'intoxication par les aflatoxines.

On n'enregistre pas de mortalité importante et l'état général des animaux peut être satisfaisant bien que la cancérisation survienne plus ou moins, inévitablement après un certain temps (5).

Ces manifestations ont été décrites aussi bien chez le porc (63), le rat (25) et le singe (1) que chez le caneton (44) et la truite arc-en-ciel (56).

Cette cancérisation porte essentiellement sur le foie mais des auteurs ont décrit des cancers sur d'autres sites : rein, estomac et colon (23).

La dose d'"induction" du cancer est généralement très faible. Une consommation continue de 0,015 ppm est suffisante pour produire une forte incidence de cancer hépatique chez des rats (23).

Le temps d'apparition d'un état pré-cancéreux est très bref, quatre mois de régime faiblement contaminé suffisent (14)

I -3- CYTOTOXICITE DES AFLATOXINES

Cette cytotoxicité a été surtout étudiée pour l'aflatoxine B₁.

Cette molécule (ou son métabolite actif, le 2-3 époxy-aflatoxine B₁) agit sur la synthèse du DNA et beaucoup moins sur celle du RNA.

Cette action entraîne un blocage, in vivo, de la réplication, de la traduction et de la transcription; ce qui se traduit par des altérations de l'ultrastructure cellulaire : ségrégation nucléolaire, polysomes en hélice, agrégation des grains interchromatiniens (72).

Une étude récente a montré que l'aflatoxine B₁ est fort préjudiciable pour les chromosomes humains. Les cellules traitées ont montré un taux élevé d'aberrations surtout des cassures et des échanges (36).

II - LES AFLATOXINES DANS LES PRODUCTIONS ANIMALES

Du fait d'une certaine pratique qui consiste à donner aux animaux des aliments moisissés retirés de la consommation humaine, il est bon de savoir si l'aflatoxine ne se retrouve pas dans les productions animales (viande, lait et oeuf...) et le risque que pourrait constituer pour l'homme une éventuelle consommation de ces produits.

C'est ainsi que certains auteurs ont prouvé, en utilisant des méthodes de dosage hautement sensibles, la présence de résidus d'aflatoxine dans les muscles et organes du porc (98), des bovins (69) et du poulet (92) mais aussi dans les oeufs (64) et surtout dans le lait où l'aflatoxine se retrouve sous une forme hydrosoluble, l'aflatoxine M (69).

Cependant, mis à part le lait où près de 1 % de l'aflatoxine ingérée est retrouvée sous la forme d'aflatoxine M (qui est aussi toxique que l'aflatoxine B₁), les résidus toxiques ont été trouvés à des taux extrêmement faibles de l'ordre de 1/10^e de ppb, les plus fortes concentrations se retrouvent dans le foie.

Donc seul le lait mérite une attention particulière. Il faut remarquer, en effet, que si le taux d'aflatoxine ingérée est très élevé, soit l'animal meurt et il n'est alors pas consommé, soit il est vivant mais avec un foie mal en point qu'une inspection vétérinaire bien conduite va retirer de la consommation.

Avec un crédit de l'Agence de Coopération culturelle et technique, nous nous étions proposés d'apporter notre contribution à l'étude du danger que représente pour l'homme, la consommation de produits animaux provenant de sujets ayant reçu dans leur alimentation des aflatoxines. Nous nous étions proposés, en utilisant la méthodologie de la toxicité de relais (42) de l'appliquer au poulet de chair en utilisant le caneton comme réactif.

Des difficultés d'approvisionnement et de dosage des résidus d'aflatoxine dans les carcasses des poulets nous ont amenés à modifier notre étude pour la consacrer à une expérimentation sur des poulets de chair de rations renfermant différents taux d'aflatoxines.

MATERIEL

L'expérience, d'une durée de 60 jours, a porté sur des poussins de souche Arbor Acre qui nous ont été fournis par le Centre National d'Aviculture de MBAO.

Cinq lots (numérotés de I à V) de 60 sujets, chacun, ont été constitués et mis en place le 18/12/78 dans des locaux du C.N.A.

Les aliments correspondant aux différents lots titraient en moyenne 23 % de matières protéiques brutes (M.P.B.) et 3010 kcal/kg - Voir tableau XI - Trois mangeoires communs par lot ont été utilisés.

TABLEAU X : Résultats de l'analyse bromatologique des aliments

	Matières sèches	Matières Protéiques brutes	Matières grasses	Cellulose	Matières minérales	Calcium	Phosphore
Aliment I	91,29	21,41	11,95	2,70	7,33	0,49	0,87
Aliment II	89,94	22,28	11,76	2,59	6,78	0,26	1,74
Aliment III	90,08	22,94	7,42	3,06	5,29	0,25	1,10
Aliment IV	89,81	24,03	10,65	2,63	7,23	0,30	1,28
Aliment V	90,75	24,03	7,27	4,42	4,32	0,23	0,80

Les taux d'aflatoxine ont été respectivement de 62,63, 92, 148 et 154 ppb (les analyses ont été faites au laboratoire d'aflatoxine de l'Institut de technologie alimentaire de Dakar).

Ces faibles taux s'expliquent par le fait que nous n'avons pas pu trouver un tourteau fortement toxique de sorte qu'un tourteau "ordinaire" acheté à une huilerie de la place a été utilisé, il titrait 450 ppb.

METHODE

La distribution des aliments se faisait deux fois par jour, le matin à 9 heures et le soir à 17 heures.

Les refus de la veille sont pesés avant la distribution du matin.

Les consommations d'eau n'ont pas été notées.

Des pesées effectuées toutes les deux semaines ont permis de suivre l'évolution pondérale des différents lots.

Les sujets étaient vaccinés aux moments opportuns contre les maladies de Newcastle et de Gumboro.

TABLEAU XI : Quantités d'aliment consommées (en kg)

	LOT I	LOT II	LOT III	LOT IV	LOT V					
	Total	Moy.	Total	Moy.	Total	Moy.				
Du 18-12-77	:	:	:	:	:	:				
au 30-12-77	12,554	0,212	10,305	0,171	12,674	0,211	11,897	0,212	8,142	0,136
Du 30-12-77	:	:	:	:	:	:				
au 19-01-78	61,147	1,036	65,428	1,090	71,462	1,191	69,336	1,238	32,962	0,659
Du 19-01-78	:	:	:	:	:	:				
au 31-01-78	69,935	1,085	65,333	1,089	78,788	1,313	70,420	1,257	45,831	1,118
Du 31-01-78	:	:	:	:	:	:				
au 16-02-78	81,785	1,410	81,530	1,359	97,095	1,618	80,595	1,439	22,420	0,59
en 60 jours	:	3,7	:	3,7	:	4,3	:	4,1	:	2,5

TABLEAU XII : Evolution pondérale des différents lots (en grammes)

		! Le 30/12/77	! Le 19/1/78	! Le 31/1/78	! Le 16/2/78
! LOT I	! N	! 59	! 59	! 58	! 54
	! \bar{X}	! 147,2	! 589,4	! 1037,6	! 1845,7
	! \pm	! 7,2	! 26,0	! 40,6	! 69,6
! LOT II	! N	! 60	! 60	! 60	! 59
	! \bar{X}	! 145,4	! 601,0	! 1024,9	! 1821,5
	! \pm	! 8,0	! 32,4	! 49,1	! 68,3
! LOT III	! N	! 60	! 60	! 60	! 60
	! \bar{X}	! 170,9	! 670,2	! 1155,1	! 1925,3
	! \pm	! 7,0	! 25,6	! 42,0	! 56,8
! LOT IV	! N	! 56	! 55 * *	! 56	! 56
	! \bar{X}	! 163,3	! 684,4	! 1137,9	! 1595,0
	! \pm	! 8,6	! 8,0	! 53,0	! 89,6
! LOT V	! N	! 60	! 50	! 41	! 38
	! \bar{X}	! 96,2	! 288,6	! 539,0	! 819,2
	! \pm	! 5,2	! 32,7	! 74,4	! 139

* un sujet a dû échapper à la pesée

Poids = f(date de pesée)

1500g

1000g

500g

-35-

III

VI

IV

IV

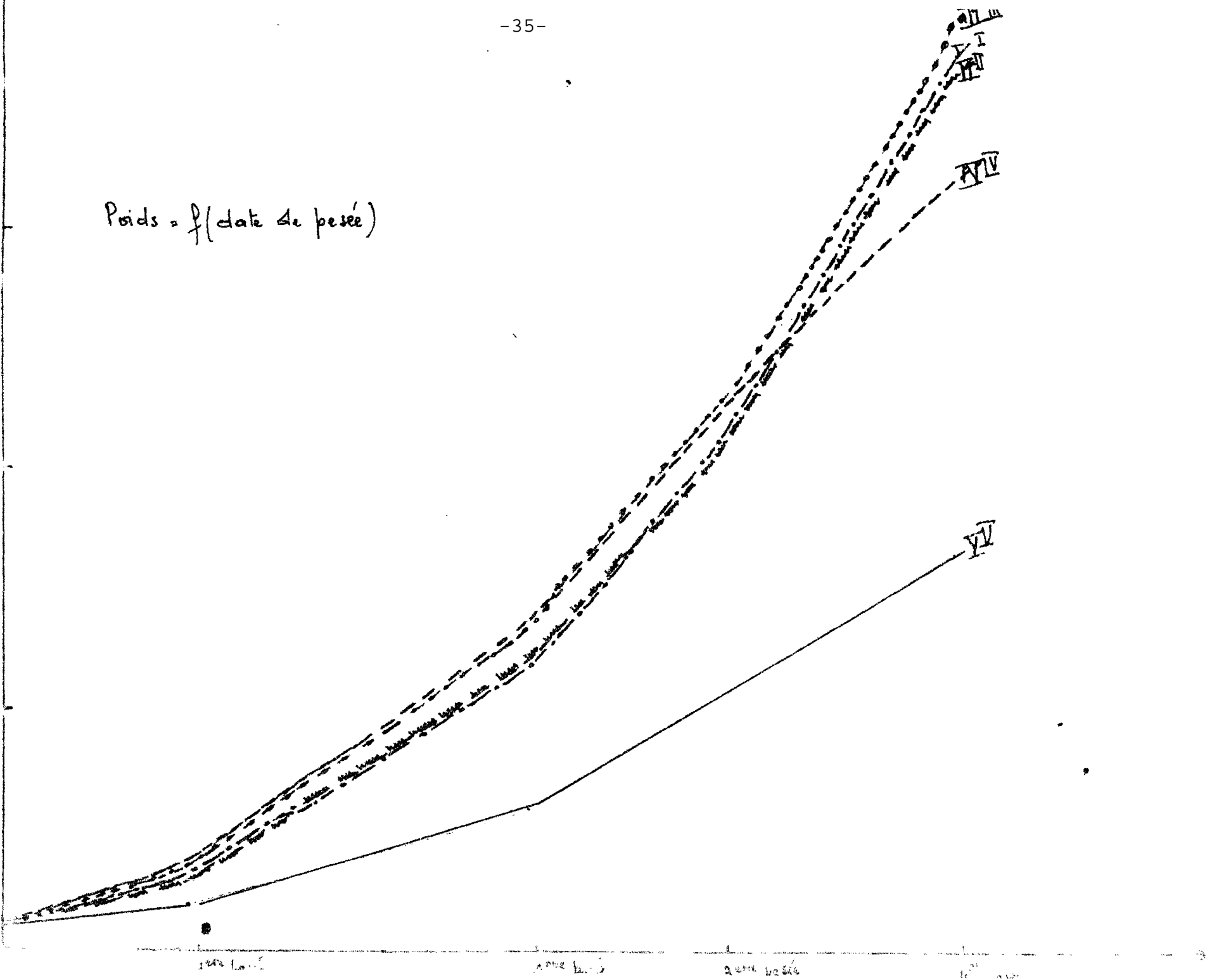
V

1942 (10.11)

1943 (10.11)

1944 (10.11)

1945 (10.11)



A la fin de la période d'élevage des prélèvements de foie ont été effectués en vue d'une étude histologique.

RESULTATS

EVOLUTION DES QUANTITES D'ALIMENT CONSOMMEES

Elle est résumée au tableau XI de la page 33. Il a été tenu compte dans le calcul des moyennes des mortalités survenues en cours d'élevage.

Notons les faibles quantités consommées par le lot V qui s'est d'ailleurs distingué très tôt par une vivacité moindre lors de la distribution des aliments.

EVOLUTION PONDERALE DES DIFFERENTS LOTS

Les résultats des différentes pesées figurent au tableau XII de la page 34.

L'analyse statistique montre que :

- les lots I et II sont identiques. Aucune des comparaisons deux à deux n'a montré de différence significative.
- pour les 3 premières pesées les lots III et IV sont identiques mais il n'en est plus de même pour la 4e pesée où la croissance du lot IV est nettement diminuée sans que l'on puisse en trouver la raison.
- le lot V est totalement différent de tous les autres.

En résumé, pour les 3 premières pesées on a - Voir graphiques page 35 - :

$$III = IV > I = II > V$$

alors qu'en fin d'expérience on a : $III > I = II > IV > V$

INDICES DE CONSOMMATION

Nous n'avons calculé que l'Indice de consommation des lots pour toute la période expérimentale.

TABLEAU XIII : Valeur des Indices de consommation en fin d'expérience

	LOT I	LOT II	LOT III	LOT IV	LOT V
Quantités moy. d'aliments consommées (kg)	3,7	3,7	4,3	4,1	2,5
Poids moy. des sujets (kg)	1,8	1,8	1,9	1,6	0,8
Indice de consommation sur 60 Jours	2,03	2,03	2,26	2,60	3,05

EXAMEN HISTOLOGIQUE

Nous n'avons malheureusement pas fait des prélèvements hépatiques sur les poulets morts en cours d'élevage. Cependant les autopsies ont montré des plages de dégénérescence graisseuse en particulier avec les sujets des lots V et I avec parfois une entérite modérée.

En fin d'élevage, les sujets étaient tous bien portants et vifs, même le lot V qui s'est fait remarquer dès le début par de faibles performances et une vivacité moindre avait "récupéré". De sorte que l'examen histologique de foyes prélevés sur les lots I, IV et V dont la teneur respectives des aliments était de 62 ppb, 148 ppb et 154 ppb, n'a montré aucune lésion significative. Ce qui ne nous a surpris outre mesure compte tenu des faibles taux de toxines et de la qualité des rations distribués, et de l'âge des sujets.

EN CONCLUSION :

Mis à part le lot V qui s'est distingué par de faibles performances zootechniques tant au niveau de la croissance que de l'indice de consommation, l'ensemble des sujets s'est bien comporté c'est ainsi qu'on a pu avoir des sujets de plus de 1 800 g de poids moyen avec un indice de consommation de près de 2. (lot I)

Mais du fait des variations qui existent dans la qualité des rations, nous ne pouvons imputer les faibles performances au seul fait d'un taux plus élevé d'aflatoxine.

Cependant, nous pouvons noter que les lots à faibles teneurs en aflatoxines dans la ration (III, I et II) se sont dans l'ensemble mieux comportés.

Des dosages de résidus de toxines n'ont pas été effectués sur les tissus et organes des poulets mais il est très vraisemblable qu'on n'en trouverait pas ou tout au moins à des taux à la limite de la détection.

Le tourteau d'arachide faiblement toxique peut donc être utilisé à des taux compris entre 10 et 20 % de la ration des poulets de chair avec des performances zootechniques appréciables sans pour autant constituer un risque pour le consommateur.

En ce qui concerne les poules pondeuses, il faut leur distribuer des taux de 5000 à 10 000 ppb d'aflatoxine dans la ration pour retrouver des taux de 0,05 à 0,08 dans l'oeuf (64). Donc le risque est infime, pour ne pas dire inexistant, même avec la poudre d'oeuf où ces taux sont multipliés par 4.

Ce sont donc seulement le lait et les productions végétales qui pourraient constituer un danger chez l'homme, en particulier être impliqués dans la fréquence du cancer primitif du foie (C.P.F.) mais le problème de l'étiologie de cette affection est assez complexe comme nous allons le voir.

III - DANGERS CHEZ L'HOMME

III-1 - TOXICITE AIGUE

La description d'intoxications aiguës chez l'homme est peu fréquente dans la littérature. Le premier cas a été décrit chez un jeune ougandais mort brutalement dont le foie présentait une nécrose centro-lobulaire. L'enquête trouva que l'aliment qu'il avait consommé était fortement contaminé par l'aflatoxine (88).

Récemment, KRISH NAMACHARI et Coll (59) rapportent le cas de 400 personnes tombées malades dont 80 mourront dès suite d'une alimentation renfermant entre 2,5 et 15,6 microg. d'aflatoxine par gramme d'aliment.

Les aflatoxines sont aussi soupçonnées d'être à l'origine du syndrome de Reye chez les enfants, se traduisant par une encéphalopathie avec une dégénérescence graisseuse du foie (35). Mais c'est surtout dans le C.P.F. de l'homme que l'aflatoxine est soupçonnée de jouer un rôle favorisant pour ne pas dire déterminant.

III - 2 - PROBLEME DE L'ETIOLOGIE DU C.P.F. EN ZONE TROPICALE

Le cancer primitif du foie est une affection très répandue à travers le monde avec, cependant, une incidence nettement plus importante en zone tropicale qu'en zone tempérée - Voir Tableau XIV de la page suivante-

Plusieurs hypothèses furent émises pour expliquer la fréquence particulièrement importante du C.P.F. dans ces régions.

En 1956, PAYET et coll. , dans une étude critique à propos de 240 cas, soupçonnèrent une étiologie virale ; l'idée d'une séquence hépatite virale-cirrhose méta-ictérique - cancer primitif du foie fut avancée (78).

En 1963, HIGGINSON J. (51), remarquant en plus que le C.P.F. présentait une fréquence considérable dans les régions chaudes où l'alimentation était essentiellement végétale et le niveau nutritionnel assez bas, propose une théorie à double étage : d'abord, une première atteinte du foie durant l'enfance due à la malnutrition protéique suivie d'une hépatite virale dans un second temps.

Pendant ce temps, l'aflatoxine était découverte et son hépatocarcinogénicité chez de nombreuses espèces animales, précisée.

En 1965, OETTLE fit un inventaire critique de nombreux facteurs tels que le Kwashiorkor, la fièvre jaune, l'hémochromatose, la schistosomiase, etc... au niveau de différentes régions et conclut que l'hypothèse d'une étiologie mycotoxique était la plus plausible compte tenu des données connues sur le cancer du foie (74).

Par la suite, plusieurs études menées à travers le monde vont montrer une certaine corrélation entre les deux variables que sont le taux d'aflatoxine dans la ration quotidienne des populations et l'incidence du cancer primitif du foie.

TABLEAU XIV : INCIDENCE DU CANCER PRIMITIF DU FOIE POUR 100 000 habitants
DANS DIFFERENTES PARTIES DU MONDE

(P A Y S)	(H O M M E S)	(F E M M E S)	(SEX RATIO M/F)
(MOZAMBIQUE)	(103,8)	(30,8)	(3,4)
(SENEGAL)	(24,5)	(10,0)	(2,4)
(AFRIQUE DU SUD (BANTOU))	(19,2)	(9,9)	(1,9)
(NIGERIA)	(9,8)	(2,3)	(4,3)
(OUGANDA)	(6,2)	(2,3)	(2,7)
(JAPON (MIYAGI))	(6,0)	(4,7)	(1,3)
(SINGAPOUR (CHINOIS))	(8,6)	(1,2)	(7,2)
(HAWAII :			
(CAUSASIENS)	(4,5)	(1,9)	(2,4)
(JAPONAIS)	(7,5)	(0,6)	(12,5)
(HAWAIIENS)	(9,7)	(4,8)	(2,0)
(ANGLETERRE)	(1,1)	(0,5)	(2,2)
(SUISSE)	(1,8)	(0,8)	(2,3)
(U.S.A. (NEW-YORK))	(1,5)	(0,9)	(0,7)
(CANADA)	(1,0)	(0,5)	(0,8)
(COLOMBIE)	(4,0)	(5,3)	(2,0)

SOURCE : P.PENE et M.E. BOISSON (81)

Ce bref historique des hypothèses émises quant à l'étiologie du cancer primitif du foie nous permet de présenter les deux grandes conceptions actuelles pour expliquer la très grande incidence de cette affection dans certaines régions du globe, à savoir l'association hépatite virale -cirrhose méta-ictérique- C.P.F., d'une part, et l'association aflatoxine - C.P.F., d'autre part.

1) Relation hépatite virale - cirrhose méta - ictérique - C.P.F.

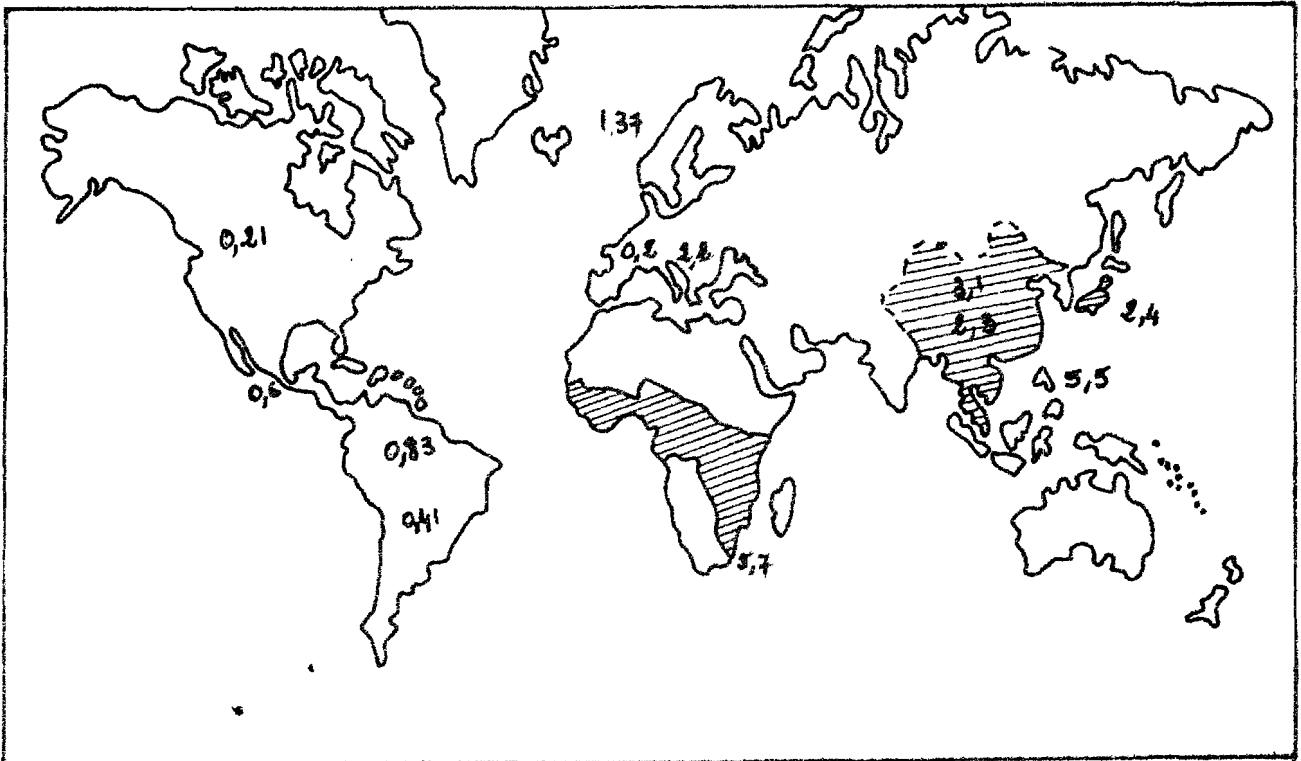
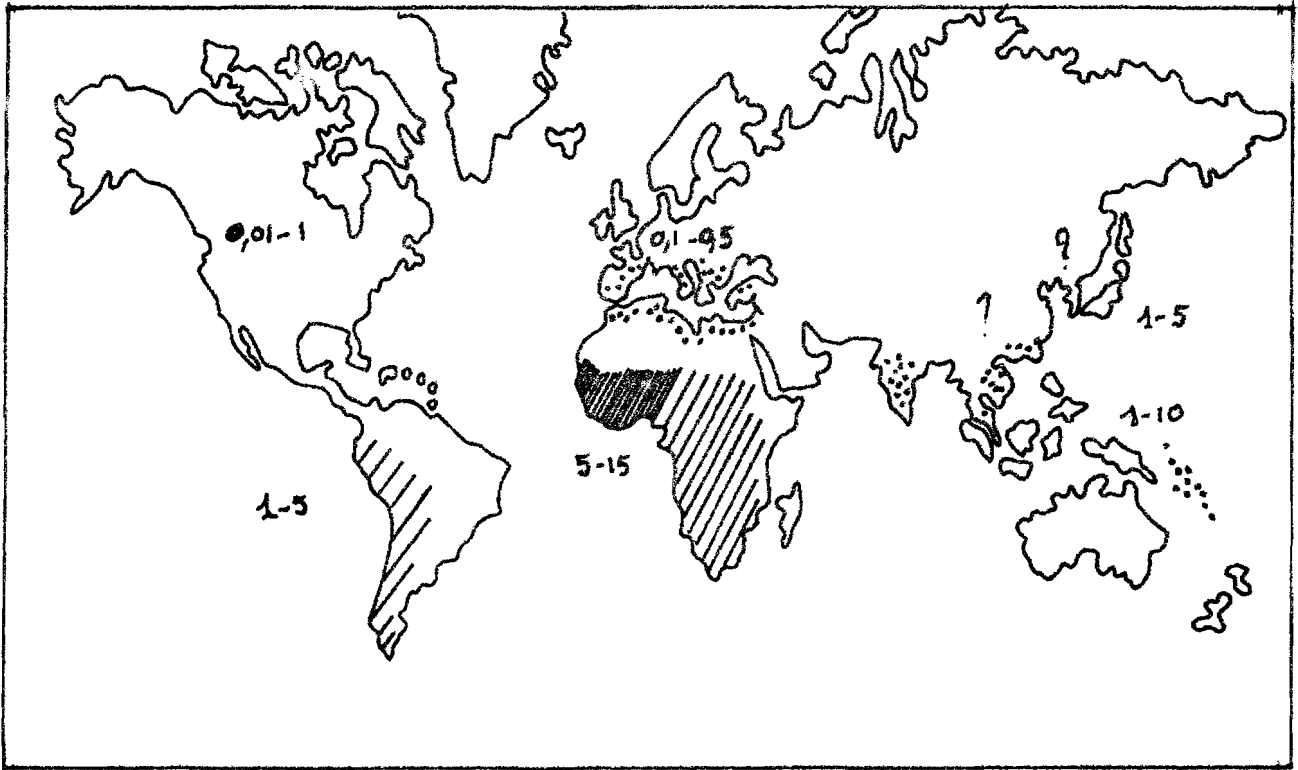
L'hypothèse de cette relation a été avancée sur la base d'arguments épidémiologiques et anatomiques (18) :

- le caractère endémique de l'hépatite virale dans beaucoup de pays à cancer du foie associé à la fréquence d'antécédents d'ictère (plus de la moitié des cas chez les porteurs de C.P.F.)
- la présence de certaines inclusions cytoplasmiques d'allure virale dans les hépatomes.
- les cancers du foie surviennent avec une grande fréquence sur les cirrhoses post-nécrotiques.

Le mot de PENE P. (81) : "le cancer naît sur un foie de cirrhose. La cirrhose est un état précancéreux", est bien significatif. En effet, les lésions habituelles de la cirrhose méta-ictérique se trouvent fréquemment associées aux images de dégénérescence hépato-cellulaires. Certaines de ces cirrhoses réalisent des aspects franchement précancéreux et ces états coexistent et voisinent souvent avec des images néoplasiques (3).

Il est important de noter que l'africain a beaucoup plus que l'européen tendance à prolonger l'évolution de son hépatite virale et des biopsies hépatiques successives ont permis d'assister à l'installation de ces cirrhoses particulières (18,79).

La découverte de l'antigène Australia par BLUMBERG en 1964, en permettant de repérer les porteurs de virus B de l'une des deux hépatites virales, montrera à travers la synthèse d'enquêtes effectuées dans près de 20 pays, une superposition assez nette entre les répartitions géographiques de cet antigène et du cancer primitif du foie (79) - Voir cartes 1 et 2 page suivante.



Ces résultats montrent, par ailleurs, que l'antigène est retrouvé dans les populations africaines à haut risque avec des fréquences 10 à 12 fois plus élevées que chez les populations européennes.

Dans ces mêmes populations, l'antigène est retrouvé avec une plus grande fréquence chez les malades atteints de C.P.F. que chez ceux présentant d'autres cancers et chez les malades non cancéreux. J. MICHON et coll. (70) ont pu enregistrer des taux respectifs de 61,2 %, 11,7 % et 11,3 % chez les malades sénégalais.

Si toutes ces constatations autorisent à penser à une étiologie virale du C.P.F., il faut reconnaître que le virus de l'hépatite n'est pas la seule cause de cette redoutable affection puisque les épidémies d'hépatite virale ne sont pas suivies d'une recrudescence parallèle du C.P.F. au sein des populations concernées (18). Et parmi les autres facteurs étiologiques présents, les aflatoxines méritent d'être considérées avec plus d'attention.

2) Relation aflatoxine - C.P.F.

L'hépatocarcinogénicité des aflatoxines, de l'aflatoxine B1 en particulier, a été retrouvée chez de nombreuses espèces animales telles que le porc (63), le rat (25), la truite arc-en-ciel, pour ne citer que ces exemples.

Ces observations, associées au fait que la moisissure productrice de ces toxiques trouvent naturellement les conditions de température et d'humidité favorables à son développement et à sa toxinogénèse dans les pays tropicaux, vont faire soupçonner un rôle des aflatoxines dans le cancer primitif du foie qui, justement, est particulièrement fréquent dans ces régions.

Des études réalisées en THAILANDE (89,90) et mieux encore celles faites aux KENYA (80) feront apparaître, par la suite, une corrélation positive entre les estimations des quantités journalières d'aflatoxine consommées et les fréquences des hépatomes primitifs.

D'autre part, les aflatoxines se sont révélées être de puissants agents mutagènes (36). Or, il a été démontré une corrélation hautement positive entre le pouvoir cancérogène et le pouvoir mutagène (72).

Il faut tout de même reconnaître qu'il ya des variations spécifiques de la sensibilité à l'aflatoxine. Il serait, alors, un peu hasardeux de faire des extrapolations à l'homme à partir des résultats obtenus sur des animaux de laboratoire. L'exemple du rat de souche pure qui répond, avec constance, aux sollicitations des expérimentateurs alors que le rat "conventionnel" est **résistant** au cancer expérimental est assez édifiant (79).

Par ailleurs, compte tenu des nombreuses études sur les facteurs d'inductions expérimentales du cancer, il est peu vraisemblable que l'homme soit seulement exposé à un seul agent carcinogène, l'aflatoxine.

Les cirrhoses et hépatomes en région tropicale doivent donc être vus comme la résultante de l'inter-action de facteurs divers, particulièrement de l'aflatoxine et du virus B de l'hépatite ou de son antigène HB, se jouant sur un terrain plus ou moins "conditionné". Et dans ce conditionnement, le "contexte" alimentaire ne doit jamais être perdu de vue (38).

Quelques exemples de relations entre la qualité de l'alimentation et la toxicité des aflatoxines nous permettront d'illustrer ce point de vue.

3) Alimentation et toxicité des aflatoxines

Déjà en 1963, Ellane LEBRETON montrait que les régimes carencés, notamment en choline, accélèrent le processus de cancérisation et augmentent le pourcentage de cancer induit par les aflatoxines (79).

D'autre part, des observations de HENRY FOY et coll. (43) montrent que des carences en PYRIDOXINE entraînent chez le babouin le développement de cirrhoses et d'hépatomes.

Ces auteurs pensent que l'aflatoxine pourrait agir, au moins en partie, en tant qu'antagoniste de la pyridoxine et que son action serait maximale sur des sujets recevant une alimentation carencée en pyridoxine.

FERRANDO et coll. (40) montrent que la carence en vitamine D3 augmente les méfaits de l'aflatoxicose chez le caneton. Le même phénomène a été retrouvé chez le poulet par HAMILTON et coll. (49).

De même un prétraitement du caneton par DDT et le phénobarbital permet d'atténuer les effets de l'aflatoxine. L'utilisation du DDT pendant une période de 8 jours, avant tout apport d'aflatoxine, se révèle encore plus efficace (6).

On a noté aussi que les hépatocytes des foies de rats ayant consommé 5 mg/kg/J. d'aflatoxine B1 pendant 5 jours étaient plus altérés quand ces animaux recevaient un faible taux de protéines, 4 pour 100 au lieu de 18,5 % (39).

Ces quelques exemples montrent que la toxicité des aflatoxines est influencée aussi bien par les carences globales que par les carences spécifiques. Cela pourrait expliquer, en partie, une certaine prédisposition des populations du tiers-monde à faire un C.P.F.

4) Autres causes favorisantes

Nous regrouperons dans cette catégorie toutes les causes d'irritation du tissu hépatique :

- les parasitoses hépatiques (Fascioloses, Schistosomoses, etc...)
- certains facteurs d'origine bactérienne qui peuvent traverser la paroi intestinale et atteindre le foie. Des travaux de GRANT et ROE, cités par COADY A. (29), il ressort que la dimethyl benz (a) -anthracène induit plus difficilement d'hépatomes chez les rats germ-free que chez les rats ordinaires même si le carcinogène est administré par voie parentérale.

Ce chapitre de notre étude montre que le problème de l'étiologie du C.P.F. doit être vu sous un angle beaucoup plus large avec des inter-relations de facteurs multiples puisque, comme l'a dit COADY A. (29), dans son étude générale sur les cirrhoses et cancers hépatiques des régions tropicales, "l'expérience a montré que la nature, en posant un problème, est rarement assez obligée pour présenter une variable unique comme dans une expérience de laboratoire bien conduite".

Cette inter-relation peut, dans une certaine mesure, être schématisée comme l'indique la figure 11 de la page suivante.

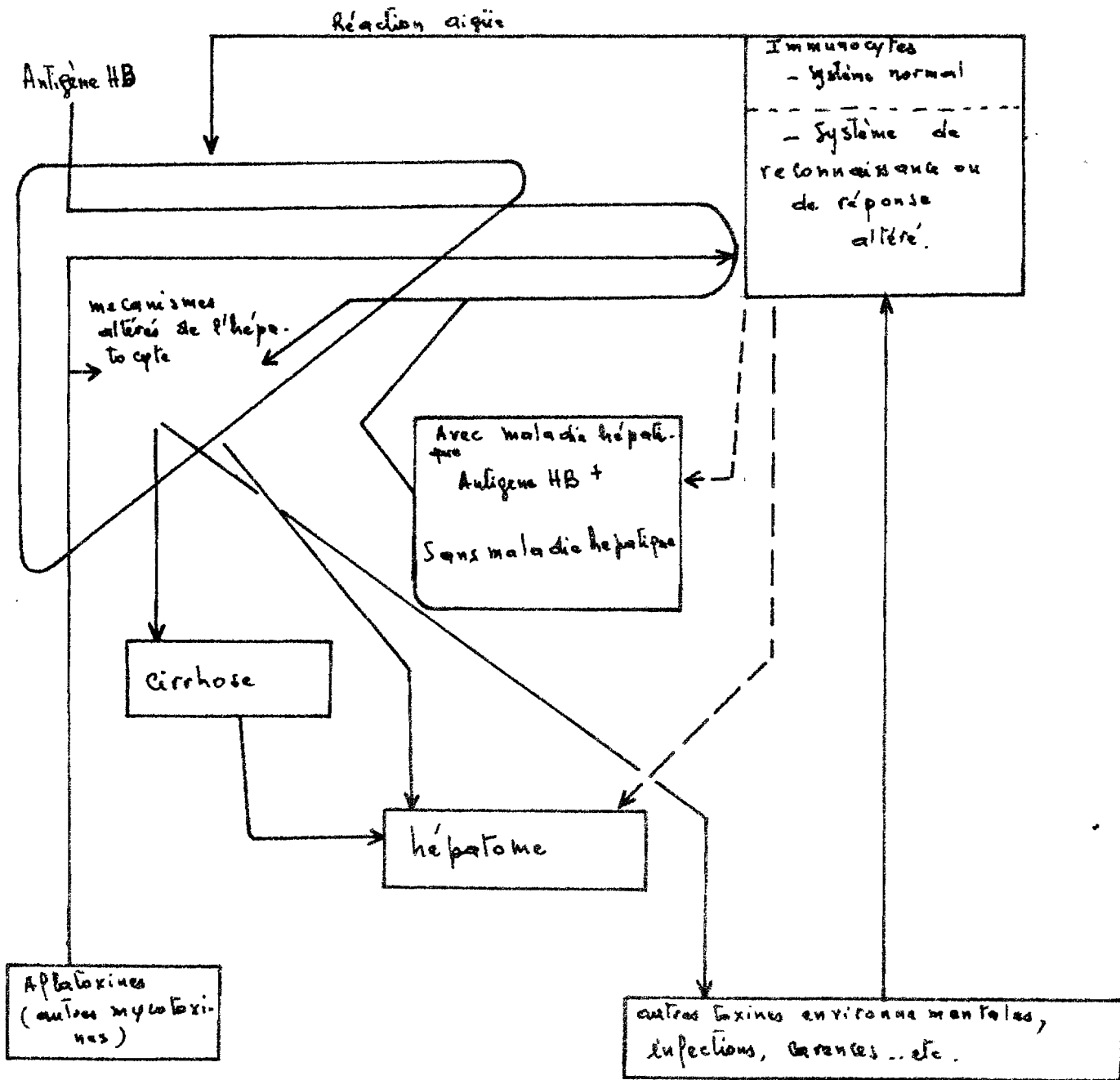


Fig II - Interrelations possibles des toxines naturelles et des facteurs immunologiques dans la production des cirrhoses tropicales et des hépatomes. (Les flèches en pointillés indiquent le sens des actions normales qui ont été inhibées (d'après Coady A.)

En effet, plusieurs travaux ont mis en évidence le rôle inhibiteur de l'aflatoxine sur le système immunitaire ; le thymus et la bourse de Fabricius qui sont les deux principaux organes du système immunitaire, sont diminués respectivement de 55 pour 100 et 30 pour 100 avec des doses d'aflatoxine de 10 microg/g d'aliment.

De même, une inhibition de la transformation lymphoblastique par l'aflatoxine a été observée avec des lymphocytes humains sensibilisés à la phytohémagglutinine (6). Dès lors, il serait raisonnable de penser que les hépatocytes et immunocytes peuvent être tous deux endommagés simultanément par une ou plusieurs substances, l'action dépressive sur l'immunité de la P.R. toxine (produite par *Penicillium roqueforti*) vient d'être démontrée récemment (72), avec colonisation concomitante de l'hépatocyte par un virus que l'organisme ne peut éliminer du fait d'un système immunitaire affaibli.

Avec la colonisation virale de l'hépatocyte, 3 possibilités vont s'offrir selon l'état de plus ou moins de défaillance du système immunitaire :

- Dans un premier cas, les modifications structurales de l'hépatocyte par le virus sont telles que l'hépatocyte ainsi modifié est reconnu comme non-soi.

Il devient alors l'objet d'une attaque par les moyens cellulaires de l'immunité qui élimine les cellules "marquées". C'est l'hépatite aiguë. L'antigène HB disparaît avec la guérison.

- Mais si l'hépatocyte modifié n'est pas reconnu par les immunocytes comme non-soi, de telles attaques ne se produisent pas et l'individu est apparemment sain. C'est le cas des porteurs sains. Cependant, ces porteurs ne sont pas aussi sains que pourrait le laisser croire leur comportement clinique et même leur comportement biologique. Les ponctions biopsies hépatiques révèlent chez eux l'existence d'une mésenchymatose hépatique certaine se traduisant par une majoration de la réticuline, un foie lobulé, une infiltration plasmolymphocytaire des espaces portes, témoins d'un processus évolutif qui pourra demeurer longtemps sans expression clinique, et même parfois, rétrocéder (79).

- La troisième possibilité, qui nous intéresse plus particulièrement, se produit lorsque la reconnaissance ou la réponse des immunocytes est incomplète.

Une attaque continue et peu efficace par le système cellulaire de l'immunité va induire un processus chronique sans élimination de l'antigène, ce qui pourrait aboutir à la cirrhose ou à l'hépatome.

Il ressort de tout ceci que l'aflatoxine semble jouer un double rôle dans la genèse des cirrhoses et hépatomes rencontrés dans les régions à haut risque :

- d'abord, en entraînant de profondes modifications du mécanisme intime de fonctionnement de l'hépatocyte.
- Mais aussi en inhibant, plus ou moins, les réactions de défense de l'organisme, favorisant ainsi indirectement la colonisation virale de cette dernière et la chronicité de la maladie hépatique.

Il faut dire que ces propriétés ne sont pas une caractéristique exclusive des seules aflatoxines puisqu'il a été démontré récemment que la P.R. toxine possède cette double propriété (72)

La mycotoxicologie étant une science relativement récente, il est vraisemblable que la liste ne se limitera pas à ces deux cas.

La présence des aflatoxines dans les aliments de l'homme, par le risque qu'elle constitue en pathologie humaine, doit donc être évitée. Mais avant d'aborder l'étude de ces méthodes préventives, nous brosserons brièvement quelques aspects économiques de la contamination des denrées agricoles **des pays tropicaux** en insistant particulièrement sur l'arachide et ses dérivés.

TROISIEME PARTIE

CONSEQUENCES ECONOMIQUES ET METHODES PREVENTIVES
DE LA PRESENCE DES AFLATOXINES DANS LES ALIMENTS

1° - CONSEQUENCES ECONOMIQUES

Les moisissures occasionnent des dégâts importants dans les produits agricoles des pays tropicaux qui se traduisent par une diminution de la viabilité des graines de semence, une baisse de qualité (décoloration, saveur anormale, etc...) une baisse de la valeur nutritive des aliments mais surtout par une toxicité due aux métabolites qu'elles produisent.

Ainsi, en Ouganda, des pertes estimées à plus d'un demi-million de dollars ont été occasionnées par le développement de moisissures, principalement du genre *Aspergillus*, au cours du transport ferroviaire du café jusqu'au port de MOMBASSA.

De plus, plus des 2 % du cacao de l'Ouest Africain sont ainsi perdus avant leur embarquement (52).

Mais le problème le plus aigu auquel doivent faire face les producteurs des pays tropicaux (constitués essentiellement des pays du Tiers-monde), est la présence des aflatoxines dans les produits agricoles.

En effet, compte tenu du danger potentiel que constitue pour la population la consommation de denrées contaminées, les pays développés en général, les pays européens en particulier ont adopté des normes rigoureuses quant aux taux d'aflatoxine tolérés dans les aliments.

En ce qui concerne les tourteaux d'arachide destinés à l'alimentation animale, les normes des pays membres de la Communauté Economique Européenne (C.E.E.) sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

Tableau n° XV - TAUX D' AFLATOXINE TOLERES PAR LA C.E.E.

A L I M E N T S	Taux d'aflatoxine B1 tolérés en PPB
Aliments simples	50
Aliments composés pour bovins, ovins et caprins	50
Aliments composés pour porcins et volailles	20
Aliments concentrés pour vaches laitières	20
Autres aliments composés	10

Source : KROGH. P. (60)

Cette réglementation relativement sévère ferme théoriquement le marché européen aux tourteaux africains dans une proportion variant de 40 à 100 % pour les pays membres du Conseil Africain de l'Arachide (Gambie, Mali, Niger, Nigeria, Sénégal et Soudan) soit sur la base des estimations de 1976, une moins-value annuelle de 180 à 450 millions de dollars (24).

D'autre part, le prix de la graine décortiquée subit une baisse notable.

Il est vrai que pour un pays comme le Sénégal, pour ne citer que cet exemple, étant entendu que la situation est comparable pour ses autres partenaires du C.A.A., où les graines et produits arachidières représentent près de 70 % de la valeur globale des exportations et près de 25 % du produit national brut et où 62 % de la population est engagée dans l'industrie de l'arachide (24), cette situation est tout simplement catastrophique ; et ces normes seront dénoncées avec d'autant plus de force que le problème de l'échantillonnage n'est pas résolu, que le choix de la méthode d'analyse n'a pas été accepté par les deux parties, mais surtout que l'importance réelle du rôle de l'aflatoxine dans le cancer primitif est toujours discutée.

Il convient de souligner avec PEERS (80), que les études qui ont été menées concernant le binôme aflatoxine - C.P.F. ne doivent être prises que comme une indication d'une certaine association entre deux variables et il est important de savoir qu'elles ne prouvent pas une relation de cause à effet directe.

D'autre part, toutes les évaluations des dangers que présente l'aflatoxine ont été faites par les méthodes classiques de toxicologie qui consistent à étudier la toxicité du produit. Or pour l'aflatoxine contenue dans les tourteaux destinés à l'alimentation animale, la méthodologie de la toxicité de relais (12) nous semble plus appropriée.

Enfin, les aflatoxines contenues dans les tourteaux sont métabolisées avec les autres constituants du régime et l'on retrouve dans les produits animaux (viande, lait, oeuf) des résidus et des métabolites intimement mélangés au substrat que consomme l'homme. La question fondamentale sur laquelle doit reposer objectivement une législation est de savoir quel est le danger réel que représente un lait ou tout autre produit provenant d'un animal ayant reçu dans sa ration de l'aflatoxine.

Notre étude expérimentale chez le poulet a déjà montré que chez l'animal, l'absorption quotidienne d'aflatoxine est compatible avec une productivité normale. Il convient de déterminer le seuil de tolérance à l'aflatoxine compatible, pour chaque espèce, et pour chaque production avec :

- une productivité normale
- un produit exempt de danger pour le consommateur humain.

C'est sur cette base seulement que l'on pourra établir une réglementation acceptée à la fois par les producteurs et les consommateurs.

En attendant ces données et compte tenu des dangers potentiels^S qu'on a pu observer dans certains pays, il faut inciter les pays producteurs, en particulier, à améliorer les méthodes de récolte et les conditions de stockage, en d'autres termes, à mieux prévenir la pollution des denrées alimentaires par l'aflatoxine. Ces mesures intéresseront essentiellement les produits agricoles puisque, mis à part le lait cru, les productions animales ne présentent que des taux remarquablement faibles de l'ordre du 1/10e de ppb (59).

11° - LUTTE CONTRE LA PRESENCE DE L'AFLATOXINE DANS LES ALIMENTS

Cette lutte se conçoit sur deux plans :

- D'une part, *le plan défensif* visant à éviter le développement d'*A. flavus* dans les denrées alimentaires, aussi bien au niveau de la production, qu'au cours de la **commercialisation**.

- D'autre part, *le plan offensif* qui consiste en un ensemble de méthodes de détoxification de produits déjà pollués.

L'association judicieuse de ces deux groupes de mesures aboutirait, en principe, à la livraison sur le marché de produits de meilleure qualité, ce qui lèverait du même coup le discrédit qui pèse lourdement sur les productions agricoles actuelles des pays sous-développés.

Nous axerons notre étude sur les moyens de prévention et de détoxification de l'arachide et ses dérivés qui sont les produits les plus concernés par le problème de l'aflatoxine, tout au moins en Afrique de l'Ouest.

11.1. - METHODES PREVENTIVES

Elles retiendront plus notre attention : n'a-t-on pas dit qu'"il vaut mieux prévenir que guérir" ? L'application de ces méthodes permettra de disposer de denrées comportant des taux relativement bas dont on pourra plus aisément éliminer les toxines par des traitements appropriés.

Ces mesures préventives doivent être appliquées de manière continue car nous pensons, avec DICKENS (31) qu'il est très important de prendre en considération dans la prévention de la contamination par l'aflatoxine ^{le fait} que la croissance d'*A. flavus* et la production d'aflatoxine qui en résulte sont des phénomènes progressifs et cumulatifs. L'arrêt de leur évolution par le séchage ou par une baisse de température ne tue pas le champignon ni n'élimine l'aflatoxine déjà produite. Le champignon viable est tout prêt à reprendre la production d'aflatoxine dès que les conditions sont à nouveau favorables. Plusieurs périodes courtes favorables à *A. flavus* sont aussi nocives qu'une seule période prolongée.

Les mesures de lutte préventive peuvent être groupées en mesures à appliquer avant la récolte, à la récolte et après la récolte.

11.1.1. - AVANT LA RECOLTE

Il faut une utilisation de variétés d'arachide adaptées aux différentes zones écologiques tout en respectant scrupuleusement des dates de semis pour éviter qu'au cours du séchage, après la récolte, les pluies viennent arroser les gousses, créant ainsi des conditions d'humidité favorables au développement d'*A. flavus*.

- Eliminer les pieds desséchés : cette opération a permis d'obtenir des récoltes de 30 champs, répartis du Nord au Sud du Sénégal, toutes indemnes alors que les pieds desséchés de 7 d'entre eux étaient fortement contaminés (500 à 4 500 ppb) (17).

- Eventuellement irriguer : des études ont montré que les arachides ayant subi une période de sécheresse à la fin de leur croissance ont généralement un taux de contamination par *A. flavus* plus élevé au moment de la commercialisation (17,31). D'ailleurs, une expérience réalisée au Sénégal en 1973 - 74, a montré que des parcelles arrosées en fin de cycle ont été exemptes d'aflatoxine alors que les autres, sauf une, étaient contaminées (17).

- Lutter contre les prédateurs : l'infestation par *A. flavus* et la production d'aflatoxine avant l'arrachage ont généralement pour origine divers insectes et acariens du sol pendant les périodes de sécheresse (31). C'est ainsi que, pour des gousses conservées dans les mêmes conditions, on a pu observer des taux 9 fois plus élevés (4,5 ppm) d'aflatoxine pour les gousses dont la coque a été attaquée par les termites que pour celles dont la coque est intacte (0,5 ppm) (16).

D'autre part, une étude menée dans trois pays d'Afrique de l'Ouest (Mali, Niger et Sénégal) a montré que les gousses percées soit 4 % du lot analysé contenaient 40 % de toute l'aflatoxine (17).

11.1.2. - A LA RECOLTE

La mesure essentielle consiste à récolter à maturité. Les gousses d'arachide saines qui mûrissent normalement ont, à maturité, un taux d'humidité supérieur à 35 pour 100 alors que *A. flavus* nécessite pour se développer des teneurs en eau de la graine comprise entre 10-12 à 30 pour 100. Le retard de l'arrachage va occasionner des pertes en eau, créant ainsi des conditions favorables au développement de la moisissure et à sa toxinogénèse. C'est ainsi que les résultats d'une expérience menée au Sénégal ont montré qu'un retard de l'arrachage de 10 jours multipliait par 6 le taux d'aflatoxine des graines (7).

C'est ce même phénomène qui se produit pour les gousses restées en terre qui, de ce fait, sont très contaminées. Malheureusement, il est de pratique courante pour les enfants sénégalais du monde rural d'aller se promener quelquefois dans les espaces libres laissés par la récolte pour récupérer ces graines et les consommer.

11.1.3. - APRES LA RECOLTE

Les méthodes préventives consistent ici, d'une part, à inhiber le développement d'*A. flavus*, et d'autre part, à trier les lots de manière à avoir une fraction exempte d'aflatoxine la plus élevée possible, et une fraction contaminée la plus réduite possible.

11.1.3.1. - INHIBITION D'*A. FLAVUS*

On pourrait utiliser toutes les substances antifongiques qui ont une action sur *A. flavus* (ex. : l'hydroxyquinoleine, le thiabendazole...) mais leur emploi poserait des problèmes hygiéniques^{ce}, qui conduit à déconseiller leur utilisation.

Cette inhibition reposera donc essentiellement sur des techniques basées sur les exigences de cette moisissure pour se développer et produire des toxines. Nous verrons successivement les mesures à prendre, au cours du séchage et au cours du stockage.

11.1.3.1.1. - LE SECHAGE

A maturité, les gousses ont des teneurs en eau supérieures à 35 pour 100 mais, après la récolte, elles vont progressivement perdre cette eau et, pendant une période présenter des teneurs en eau compatibles avec le développement d'*A. flavus*.

Pour écarter ce risque, il sera nécessaire de procéder à un séchage rapide jusqu'à une teneur en eau de 10 pour 100. Il y a, cependant, un dilemme quant à la vitesse de séchage. D'une part, le séchage doit être rapide pour éviter le développement des moisissures, d'autre part, cette vitesse doit être limitée pour éviter que la peau ne se ratatine, si c'est une graine, ou que la coque ne se fendille, si c'est une gousse. Par ailleurs, la température, qui est généralement élevée pour accélérer la vitesse de séchage, doit être maintenue assez basse pour éviter un mauvais goût aux arachides tout en évitant le développement de la moisissure (32). Une température de l'ordre de 15°C est conseillée (61).

Une autre possibilité est un séchage sous atmosphère contrôlée. Le gaz carbonique sera utilisé compte tenu de son effet inhibiteur notable sur la croissance et la toxinogénèse chez *A. flavus*. On estime que 14 pour 100 de CO₂ dans l'atmosphère suffit à arrêter la synthèse de toxines (2).

11.1.3.1.2. - LE STOCKAGE ET LE TRANSPORT

Dès après le séchage, l'arachide doit être stockée à l'abri de l'humidité. Cependant, du fait de l'entassement, il va y avoir une zone centrale plus chaude que les autres, en particulier la partie supérieure qui est généralement en contact avec

le milieu extérieur. Du fait du gradient de température dans les denrées stockées, il se crée un courant de migration de l'humidité et au niveau des zones de basse température il se produit une condensation de la vapeur d'eau. Cette condensation peut être très importante : près de 2 700 litres d'eau s'évaporent de 1 000 tonnes d'arachides lorsqu'elles passent de 9,5 pour 100 à 7 pour 100 d'humidité (poids frais).

L'activité respiratoire des graines, de même que le développement des micro-organismes fongiques, est accrue dès l'absorption de cette humidité libre. Les mycotoxines, qui sont leurs métabolites, peuvent donc apparaître bien qu'il y ait eu un taux initial d'humidité assez sûr (66).

Il faut donc résorber cette humidité, sinon elle mouillerait une partie des arachides emmagasinées.

L'aération est une technique généralement admise pour le stockage des céréales. Elle refroidit le grain et contribue à stopper le transfert d'humidité du grain chaud au grain frais.

Bien utilisée, elle peut servir à refroidir les arachides tout-venant et à empêcher le transfert d'humidité sans un séchage trop poussé qui fragilise la coque occasionnant des pertes lors de manipulations.

Il convient de souligner que cette dynamique de l'eau s'observe aussi au cours du transport, en particulier lorsque l'arachide est transportée dans des wagons de chemin de fer ou dans une cale de bateau.

Des études de DICKENS et coll. (1) ont montré qu'un minimum de 10 volumes/minute par volume est recommandé pour l'aération de l'arachide. Malgré un développement considérable de moisissures avant le séchage en colonne, l'aflatoxine ne semble pas pouvoir se développer au cours de ce traitement si ces recommandations sont suivies.

La température, par ses fluctuations va agir aussi sur la distribution de l'humidité et le développement des germes comme le prouvent les expériences de MAJUMBER (S.K.) et coll. (66) au cours de 2 mois de stockage du sorgho. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau XVII.

Tableau n° XVII - EFFETS DE LA TEMPERATURE SUR LA DISTRIBUTION DE L'HUMIDITE ET LE NOMBRE DE GERMES

Matériau de stockage	Fluctuation de la température	Humidité initiale (%)	Taux d'humidité (%)			Nbre de microorganismes/g (x10 ⁶)		
			S°	C	F	S	C	F
Aluminium	11	18	18	13	19	16	9	80
Cuivre	10	15	17	13	18	16	10	24
Fer	15	20	22	16	24	182	152	222
:	:	:	:	:	:	:	:	:
:	:	:	:	:	:	:	:	:

(°) S = partie supérieure

C = zone centrale

F = fond, partie inférieure

La température agit donc à un double point de vue, à la fois de façon absolue et relative, en entraînant une distribution de l'humidité qui va créer dans certaines zones des conditions favorables au développement de germes de stockage et, d'*Aspergillus flavus* en particulier.

Ces phénomènes ne s'observent pas ou sont amoindris, lors de stockage, dans des conditions isothermiques.

En résumé, les premières mesures préventives à prendre seront de :

- lutter contre les prédateurs (termites, iules, etc...)
- récolter à maturité en éliminant les pieds desséchés
- sécher rapidement et stocker à l'abri de l'humidité dans un endroit relativement isothermique.

Il est évident que dans les conditions tropicales, ces mesures à elles seules n'empêcheront pas de manière absolue la contamination des arachides. Or, l'ensemble du système de production des arachides est un procédé de mélange en continu : les productions de différentes exploitations sont mélangées à l'entrepôt, celles des entrepôts le sont au cours du décortilage, et les graines des diverses unités de décortilage sont mélangées à l'usine de traitement. Ce schéma fait que quelques centaines de kilogrammes d'une exploitation peuvent contaminer plusieurs centaines de tonnes. Au fur et à mesure que les arachides contaminées sont de plus en plus dispersées parmi les saines, il est de plus en plus difficile de les déceler. Des mesures complémentaires sont donc nécessaires tout au long de ces différentes manipulations pour palier ces inconvénients. Elles consistent à opérer un tri à chacun de ces stades.

11.1.3.2. - METHODES DE TRIAGE

Ces méthodes visent essentiellement à obtenir deux fractions dont une, la plus élevée possible, sera indemne d'aflatoxine ou présentera des taux dans les limites tolérables, et pourra être présentée directement sur le marché. L'autre fraction sera orientée vers d'autres filiales où elle subira une détoxification.

Plusieurs techniques peuvent être envisagées : des techniques applicables avant le décortilage, au cours du décortilage et d'autres, après le décortilage.

11.1.3.2.1. - TRI AVANT LE DECORTICAGE

Ce triage est généralement manuel. Il s'agit d'écartier à vue, les gousses percées ou fendues, brisées ou rongées par les termites et celles à bout noir. Cette méthode donne d'assez bons résultats puisque des études faites au Sénégal, au Mali et au Niger ont montré que les gousses intactes qui représentaient 56 à 92 pour 100 (moyenne 73 %) avaient une teneur en aflatoxine égale à peu près à 24 pour 100 du lot tout-venant.

Dans les gousses écartées, c'étaient les gousses percées (généralement par les lules) qui montraient les teneurs les plus élevées, 9 fois plus, en moyenne que le lot tout-venant. Bien qu'elles fussent en faible pourcentage (4,3 pour 100), elles contenaient près de 40 pour 100 en moyenne de toute l'aflatoxine du lot (17).

Ce procédé est d'ailleurs utilisé par les producteurs sénégalais d'arachide de bouche.

11.1.3.2.2. - TRI AU DECORTICAGE

On utilise le décortiquage pneumatique. Ce procédé est basé sur l'éclatement différentiel des coques permettant de séparer les graines nettement plus polluées (la coque des gousses est généralement fendillée ou percée) des graines relativement peu polluées.

PRINCIPE :

La pression atmosphérique est augmentée progressivement pour permettre une équilibrage entre la pression interne des gousses fendillées ou percées et la pression extérieure imposée. Il survient ensuite une phase de détente brutale. Ces variations de pressions entraînent un éclatement des gousses saines laissant intactes les gousses percées qui résistent mieux à l'opération du fait de la solution de continuité qui existe au niveau de leur coque.

L'efficacité de la technique est fonction de la pression imposée. La figure III de la page 59 montre que la pression optimale se situe entre 6 et 7 bars.

11.1.3.2.3. - TRI APRES DECORTICAGE

Ce tri peut se faire aussi bien par des méthodes visuelles que densimétriques.

11.1.3.2.3.1. - METHODES VISUELLES

Il s'agit de ne retenir que les graines parfaites c'est-à-dire qui ne sont ni cassées, ni dépelliculées, ni ridées, ne présentant pas de couleurs anormales. Un triage visuel sur ces bases a donné les résultats suivants (tableau XVIII à la page suivante).

Le tri des catégories A, B et D qui représentent environ 18 pour 100 du total des graines, permet d'obtenir des lots indemnes, ou pratiquement indemnes d'aflatoxines (16).

Tableau n° XVIII - TENEUR EN AFLATOXINE SELON L'ETAT DE LA GRAINE D'ARACHIDE
d'après BOOKELEE-MORVAN et coll. (16)

Catégorie de graines	Pourcentage du contenu total d'aflatoxine contenu dans la fraction considérée	Pourcentage en poids de la fraction considérée dans le lot initial tout-venant (non trié)	Teneur en aflatoxine de la fraction considérée par rapport à la teneur du lot tout-venant = 100
A. graines ridées, immaturés	3,0	37,6	7,9
B. Dégats visibles de champignons	88,2	12,0	74,0
C. Cassées, dépelliculées	0,6	41,3	1,5
D. Couleur anormale sans attaques visibles de champignons	8,2	9,1	9,0

Une autre méthode visuelle utilisant le stéréomicroscope avec un grossissement de 20 ou 40 est aussi utilisée. A ce grossissement, toutes les graines présentant un développement fongique et certaines caractéristiques morphologiques propres à *Aspergillus flavus* sont écartées.

Les procédures d'échantillonnage et de traitement des échantillons sont très précises et permettent de tenir compte des graines endommagées, des graines cassées, des coques vides et de la présence d'*A. flavus* (50).

Cette méthode est celle dite de DICKENS. Elle est utilisée en Amérique du Nord.

A côté de ces mesures préventives visant à obtenir le maximum de produit sain, on utilise des procédés d'élimination de l'aflatoxine des aliments déjà pollués.

11.2. - METHODES DE DETOXIFICATION

Plusieurs méthodes consistant en des traitements physiques ou chimiques ont été rapportées dans la littérature. Cependant bon nombre n'en sont encore qu'au stade d'essai de laboratoire ou tout au plus, au stade expérimental à l'échelle industrielle.

11.2.1. - ELIMINATION DES AFLATOXINES PAR TRAITEMENT PHYSIQUE

11.2.1.1. - TRAITEMENT THERMIQUE

L'aflatoxine est très résistante à la chaleur sèche puisqu'elle peut résister à 160°C pendant une heure. Par contre en milieu humide, elle est beaucoup plus labile. C'est ainsi que les 2/3 des toxines disparaissent après une cuisson de 2 heures d'un tourteau hydraté à 10 ou 60 pour 100 (2).

Le traitement thermique à lui seul ne semble pas être efficace mais il pourra être associé à d'autres pour accélérer le processus de détoxification.

11.2.1.2. - EXTRACTION A L'AIDE DE SOLVANTS

Les solvants spécifiques des aflatoxines tels que le chloroforme, le méthanol, peuvent être utilisés mais les meilleurs résultats ont été obtenus avec le mélange azéotropique d'acétone, hexane et eau.

Ce mélange a des avantages certains puisque :

- . c'est un excellent extracteur d'aflatoxine
- . il n'élimine pas plus de matières non lipidiques que le méthanol
- . il diminue le taux de gossypol dans les graines de coton traitées, ce qui augmente notablement sa valeur nutritive.

COLDBLATT (47) a utilisé ce mélange dans les proportions suivantes :

Acetone	42,1 %
Hexane	56,5 %
Eau	1,4 %

Le mélange n'est pas homogène à la température ambiante. Il faudra le porter à 48°C pour qu'il soit homogène.

La comparaison de ce mélange avec le méthanol montre qu'après extraction complète de l'aflatoxine, 40 % du poids de l'arachide sont extraits par le méthanol contre 4 %, y compris les lipides résiduels de la farine.

L'étude de ce mélange dans des proportions modifiées : 48,5, 50 et 1,5 pour 100 respectivement d'acétone, d'héxane et d'eau, a montré qu'après 10 lavages de 15 minutes, ce qui correspond aux conditions industrielles, le taux d'aflatoxine dans le tourteau peut être ramené de 1 000 ppb à 50 ppb ce qui est compatible avec la législation actuelle de la C.E.E.

D'autre part, l'augmentation de la température du solvant améliore l'élimination de l'aflatoxine. Alors qu'à 90°C près de 70 pour 100 de l'aflatoxine sont éliminés, ce taux passe à plus de 90 pour 100 lorsque la température d'extraction atteint 120°C, toutes les conditions étant égales par ailleurs (2, 83).

11.2.2. - ELIMINATION DES AFLATOXINES PAR LE TRAITEMENT CHIMIQUE

Des études rapportées par A. PREVOT (83) montrent que l'addition d'agents alcalins tels que le carbonate de sodium à 2 %, la soude N/5 à 1,5 %, la Triéthylamine à 0,015 % et la Triéthanolamine à 0,2 % entraîne une réduction du taux d'aflatoxine même si cette addition est faite au dernier stade de l'extraction de l'huile. Cette réduction est plus importante encore si on introduit de l'ammoniaque dans le solvant d'extraction.

Parmi ces alcalins, l'ammoniac sous pression et la méthylamine ont surtout retenu l'attention en vue de la détoxification du tourteau puisque ne dégradant pas beaucoup sa valeur protidique.

11.2.2.1. - TRAITEMENT A LA METHYLAMINE

La méthylamine doit faire l'objet d'un plus grand intérêt puisque d'après MANN et coll. (65) elle s'est révélée être aussi efficace que l'ammoniac en ce qui concerne la détoxification. La farine traitée donne un coefficient d'efficacité protéique égal ou supérieur à celui de la farine non traitée. Cependant, les produits détoxifiés à la méthylamine augmentent de façon significative le poids hépatique et les analyses biochimiques font noter une augmentation de l'urée plasmatique et des transaminases hépatiques.

11.2.2.2. - TRAITEMENT PAR L'AMMONIAC

D'après ADRIAN J. (3), le traitement du tourteau avec de l'ammoniac sous pression (3 bars) se traduit ainsi dans le domaine azoté :

- La lysine est respectée alors que la cystine est largement détruite,
- le taux de méthionine ou d'une substance à activité de méthionine tend à augmenter légèrement mais significativement,
- la digestibilité des acides aminés, mesurée in vitro, est améliorée dans des proportions importantes : la quantité d'acides aminés solubilisés est accrue de l'ordre de 25 % et celle des acides aminés entièrement libérés par la protéolyse in vitro est augmentée de 40 à 50 pour 100.

Cependant les auteurs cités plus haut (65) qui ont pu obtenir à partir de graines de coton titrant 334 microg./kg d'aflatoxine des produits de moins de 7 microg./kg, ont montré que le traitement par l'ammoniac augmentait sensiblement le taux d'azote ajouté, entre 0,43 et 0,80 % avec, par contre, une réduction de l'azote soluble de même que la lysine disponible. D'autre part, des tests d'alimentation d'une durée de 28 jours portant sur des rats recevant des rations contenant 14 % de farine ont révélé une baisse significative du coefficient d'efficacité protéique (C.E.P.) de la ration traitée à l'ammoniac, contrairement à ce que pensait ADRIAN J.

Mais des tests d'une durée de 90 jours avec une ration à 25 % de farine n'ont montré aucune anomalie sur les poids du corps et des organes. De même, les analyses biochimiques du plasma et du foie ont fourni des paramètres sanguins normaux.

Chez la vache laitière, McKINNEY et coll. (69) ne notent pas de variation de la production laitière pendant la seconde phase de leur expérimentation au cours de laquelle la farine de graines saines a été remplacée par celle de graines contaminées traitées à l'ammoniac. Le dosage d'aflatoxine avait montré un taux non détectable d'aflatoxine B1 (inférieur à 1 microg./kg) dans la farine traitée.

Plus récemment encore, des tests d'alimentation effectués par FRIOT et coll. (45) sur des pondeuses ont montré que le lot recevant du tourteau détoxifié présentait des performances meilleures que le lot recevant du tourteau ordinaire qui servait de témoin.

Si nous avons été un peu long au sujet de la détoxification par l'ammoniac, c'est que ce traitement semble être bien parti pour être utilisé à une plus grande échelle par les industriels. D'ailleurs des essais effectués en France dans une unité expérimentale par LESIEUR-SPEICHHIM, ont montré que l'on n'est pas loin de résoudre les problèmes de technologie et de rentabilité (50).

11.2.2.3. - TRAITEMENT PAR DES AGENTS OXYDANTS

D'autres possibilités méritent des investigations plus précises, nous citerons les méthodes de détoxification par des agents oxydants tels que l'eau oxygénée ou l'ozone.

Des travaux rapportés par ADRIAN J. (2) montrent que l'eau oxygénée utilisée à raison d'1 l à 6 % par kilogramme de tourteau entraîne une détoxification totale (mesurée chez le caneton) lorsqu'on porte le pH à 9 et la température à 80°C pendant 30 minutes. Un tel traitement n'altérerait en rien la valeur protidique du tourteau ainsi traité.

D'autre part, une simple injection d'ozone à 100°C détruit de fortes proportions d'aflatoxines.

Il est évident que tous ces agents de détoxification doivent être entièrement éliminés après le traitement pour éviter que des fractions résiduelles ne puissent constituer un danger chez l'animal ou éventuellement chez l'homme.

11.2.3. - ELIMINATION DES AFLATOXINES DANS LES HUILES

Nous parlerons de l'huile raffinée pour dire tout simplement qu'elle est toujours indemne d'aflatoxine. En effet, au cours des différents traitements subis, le taux d'aflatoxine devient de plus en plus réduit pour s'annuler en bout de chaîne.

Nous allons voir l'influence des différents stades du raffinage sur l'élimination des aflatoxines.

11.2.3.1. - LE LAVAGE

Ce temps opératoire n'a aucune action sur le taux d'aflatoxine de l'huile.

11.2.3.2. - LA NEUTRALISATION ALCALINE

Elle élimine la majeure partie des toxines de l'huile brute : partant d'un taux de 812 ppb, on a pu aboutir à des taux de l'ordre de 14 ppb après un raffinage alcalin avec un excès de 15 % de soude à 16° Bé suivi de 2 lavages à l'eau (1 partie d'eau/10 parties d'huile) (83).

On peut admettre que la soude utilisée dans la neutralisation confère un caractère hydrosoluble aux aflatoxines et qu'ensuite le lavage de l'huile entraîne l'élimination de ces formes solubles. Cette conception est étayée à la fois par le fait que les aflatoxines sont solubles en milieu alcalin et par l'absence d'efficacité d'un lavage direct de l'huile brute sans neutralisation préalable à la soude (2).

11.2.3.3. - LA DECOLORATION

L'action des terres, aussi bien naturelles qu'activées, a été particulièrement étudiée par VELAN et REYNAUD (93).

Avec 0,5 % de terre naturelle, l'aflatoxine est complètement éliminée pour une contamination de 500 ppb ce qui correspond à 5 000 ppb dans la graine alors que la même quantité de terre activée peut absorber le double c'est-à-dire décontaminer une huile provenant de graines titrant 10 000 ppb.

Ce stade est d'autant plus intéressant que les huiles provenant de graines très contaminées nécessitent un temps de décoloration plus long.

11.2.3.4. - DEODORISATION

Ce temps n'a pu être étudié puisqu'il ne reste plus d'aflatoxine après la décoloration.

Toutes ces méthodes d'élimination de l'aflatoxine doivent cependant être considérées seulement comme un supplément aux méthodes préventives, qui doivent être l'essentiel de nos préoccupations, et non comme une alternative à de bonnes techniques de culture et de production, bien que certaines conditions favorables au développement d'*A. flavus* soient à peu près inévitables en raison des facteurs climatiques incontrôlables.

D'ailleurs, cette détoxification qui entraîne sans doute de nouvelles charges à supporter, ne peut être envisagée que si les partenaires commerciaux consentent à en payer le prix ; ce qui n'est pas le cas actuellement.

Un programme de lutte s'avère donc nécessaire.

On conçoit aisément que cette lutte soit extrêmement difficile compte tenu des facteurs climatiques incontrôlables, ce qui rend aléatoire une action autoritaire sur les paysans. La prévention au niveau de la production sera de plus en plus efficace avec l'amélioration des méthodes générales de production agricole.

Il s'agit là d'un travail de longue haleine intimement lié aux problèmes de développement, au sens large, du monde rural.

A court terme, on tentera, par l'intermédiaire des encadreurs du monde rural ou d'émissions radio-éducatives telles que "disob" au Sénégal, d'amener le paysan à comprendre la nécessité d'entreprendre certaines actions préventives telles que :

- utiliser des variétés adaptées à la zone écologique concernée
- utiliser des insecticides pour lutter contre les insectes prédateurs (termites, lules ... etc)
- Eliminer les pieds desséchés avant la maturité
- et récolter à maturité.

Mais le fait rassurant est que la contamination au champ est très faible. Dès lors, un contrôle continu des méthodes de stockage et de transport pourrait limiter le problème.

Cette action semble plus facile, en ce sens qu'elle porte sur des organismes à caractère plus ou moins industriel. En effet, ces organismes sont plus sensibles au problème des aflatoxines mais surtout ils ont plus de moyens pour pouvoir supporter des charges supplémentaires qu'occasionneraient les mesures que sont :

- un séchage rapide des denrées
- un transport et un stockage dans des endroits secs et bien aérés
- une lutte contre les insectes prédateurs (termites et lules... etc)
- mais surtout, un triage des graines à tous les stades de la transformation et la commercialisation.

Cependant toutes ces mesures vont se répercuter sur le prix de revient du produit fini. Il faudra alors que les états producteurs supportent une partie de ces frais tout en luttant parallèlement pour que ces produits soient vendus à un prix rémunérateur. C'est là un goulot d'étranglement non négligeable.

C O N C L U S I O N

Les aflatoxines ont été révélées au monde par une épidémie de "Maladie X du dindon" survenue en 1960 dans les élevages de la Grande-Bretagne, entraînant des pertes économiques considérables.

Mais c'est surtout du fait de leur hépato-carcinogénicité chez de nombreuses espèces animales que ces toxines ont soulevé, une grave question de santé publique, à savoir leur rôle dans l'étiologie du cancer primitif du foie de l'homme. En effet, le C.P.F. est particulièrement fréquent dans les pays tropicaux où il est prouvé que de nombreuses denrées agricoles, en particulier l'arachide et ses dérivées, sont contaminées par *Aspergillus flavus*.

Cette constatation a fait adopter par les pays développés des mesures particulièrement sévères avec des répercussions alarmantes sur les économies chancelantes des pays du tiers-monde déjà secoués par la détérioration des termes de l'échange.

Rien que pour les tourteaux, l'application de ces mesures entraînerait une moins-value de 180 à 450 millions de dollars pour les pays membres du Conseil Africain de l'Arachide (C.A.A.)

Dans notre étude, nous avons tenté de montrer que le C.P.F. en milieu tropical pouvait résulter d'une action conjuguée de plusieurs facteurs environnementaux dont l'alimentation et certaines maladies hépatiques (hépatite virale, parasitoses hépatiques...) ne sont pas des moindres.

Dès lors, il est permis de penser que nos produits font dans une certaine mesure, l'objet d'une discrimination pour favoriser d'autres produits tels que le soja, d'autant que le problème de l'échantillonnage, qui constitue la principale source de variation des résultats des dosages, n'est pas encore résolu.

Toute fois, du fait de tous les risques liés à la présence des aflatoxines dans les aliments, des mesures préventives s'avèrent nécessaires :

- récolte à maturité et élimination des pieds desséchés,
- séchage rapide et stockage dans des locaux secs et aérés
- mais surtout triage à tous les stades des circuits de transformation et de commercialisation.
- recherches parallèles pour trouver des moyens de détoxification efficaces et économiques.

Il est évident que ces mesures ne pourront être pleinement appliquées que si les charges financières supplémentaires qu'elles occasionnent peuvent être amorties par une politique des prix adéquate.

Les recherches se poursuivent toujours pour mieux cerner le problème ainsi posé car, comme l'a dit DIDEROT : *"il faut être profond dans l'art ou dans la science pour en bien posséder les éléments..., c'est le milieu et la fin qui éclaircissent les ténèbres du commencement"*.

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - ADAMSON R.H. ; CORREA P. ; DALGARD D.W.
Occurrence of primary liver carcinoma in a Rhesus monkey fed aflatoxin B1.
J. Natl. Cancer Inst., 1973 , 50 ; pp 549-553.

- 2 - ADRIAN J.
Les aflatoxines III. Moyens de prévention et de détoxification.
Oléagineux , 1969, 24^o (3), pp 155 - 159.

- 3 - ADRIAN J.
Evolution de la lysine méthionine et cystine dans le tourteau d'arachide traité à l'ammoniac.
Rev. Franç. Corps Gras , 1976 , 23^o (4).

- 4 - ADRIAN J. et LUNVEN P.
Les aflatoxines I - Les agents responsables
Oléagineux , 1969, 24^o (1), pp 31 - 35.

- 5 - ADRIAN J. et LUNVEN P.
Les aflatoxines II - Les manifestations de la toxicité.
Oléagineux, 1969 , 24^o (2), pp 83 - 86.

- 6 - ALEKSANDROWICZ J. and SMYK B.
cités par COADY A. (29)

- 7 - ALLCROFT R. ; CARNAGHAN R.B.A. ; SARGEANT K. and O'KELLY J.
A toxic factors in brazilian ground nuts meal
Vet. Rec. , 1961, 73 , pp 28 - 29.

- 8 - ALLCROFT R. and LEWIS G.
Experimental poisoning of calves and a report on clinical effects in older cattle.
Vet. Rec. , 1963, 75 (19), pp 487 - 493.

- 9 - ANDRELLOS P.J. et REID G.R.
Confirmatory tests for aflatoxin B1
J.A.O.A.C. , 1964 , 47 , pp 801 - 803
- 10 - ASAO T. ; BUCHI G. ; ABDEL KADER M.M. ; CHANG S.B. ; WICK E.L. and WOGAN G.N.
The structures of aflatoxin B1 and G1, in "Mycotoxin In food stuffs":
proceeding of a symposium held at the massachusetts Institute of tech-
nology, Mars 18 and 19, 1964. WOGAN G.N. (E. dit)
Cambridge, Mars, M.I.T. Press, 1965, 291 p.
- 11 - ASHLEY L.M. ; HALVER J. E. and WOGAN G.N.
Hepatosoma and aflatoxicosis in trout.
Fed. Proc., U.S.A. , 1964, 24 , p 105.
- 12 - AUSTWICK P.K.C. and AVERST G.
Toxic products in groundnuts. Groundnuts microflora and toxicity.
Chem. an Ind. , 1963 , 2 , pp 55 - 61.
- 13 - BECKWITH A.C. et STOLOFF L.
Fluoro densitometric measurement of aflatoxin thin layer chromatograms.
J.A.O.A.C. , 1968 , 51 , pp 602 - 608.
- 14 - BIETH J.
Les aflatoxines - Propriétés physico-chimiques et effets biologiques
Prod. et Prob. Pharm. ; 1967 , 22 (6) , pp 243 - 251.
- 15 - BLOUNT W.P.
"Disease" of turkey poults
Vet. Rec. , 1960 , 72 (38), p 786.
- 16 - BOOKELEE - MORVAN A. et GILLIER P.
Essai d'élimination des aflatoxines de l'arachide par des méthodes
physiques
Oléagineux , 1974, 29 , 11.

- 17 - BOOKELE-MORVAN A. et GILLIER P.
Réduction de l'aflatoxine de l'arachide au niveau de la production agricole.
Cah. Nutr. Diet. 1976, Sup. 2 , pp 23 - 29.
- 18 - BOURGEADE A.
Correlations entre la cirrhose commune de l'africain, l'hépatite virale et le cancer primitif du foie.
Thèse de Médecine - Bordeaux, 1966, N° 104.
- 19 - BOURGEOUS C.H. ; SHANK R.C. ; GROSSMAN R.A. ; JHONSEN D.O. ; WOODING N.L. and CHANDAVIMOL P.
Acute aflatoxin B1 toxicity in the Macaque and its similarities to Reye's syndrome.
Lab. Invest., 1971 ; 24 , p. 206
- 20 - BOUTIBONNES P. et AUFRAY Y.
Propriétés antibactériennes de l'aflatoxine B1 : ses ~~effets~~**effets** ~~cytotoxiques~~**cytotoxiques** chez *Bacillus Thuringiensis* (BERLINER)
ANN. Nutr. Alim. , 1977, 31 p
- 21 - BURMEISTER H.R. ; HESSELTINE C.W.
Survey of the sensitivity of micro organisms to aflatoxins
Appl. Microbiol., 1966, 14 , pp 403 - 404.
- 22 - BUTLER W.H. et BARNES J.M.
Toxic effects of groundnuts meal containing aflatoxin to rats and guinea-pigs.
British J. cancer , 1964, 17 , p 699 - 710.
- 23 - BUTLER W.H. et NEAL G.E.
Mode of action and human health aspects of aflatoxin carcinogenesis.
ANN. Nutr. Alim. , 1977, 31 , pp 949 - 956.
- 24 - CONSEIL AFRICAIN DE L'ARACHIDE (C.A.A.)
Rapport 5° session, Bamako , 1976.

25 - CARNAGHAN R.B.A.

Hépatic tumours and other chronic liver changes in rats following a single oral administration of aflatoxin
British J. Cancer , 1967, 21 , pp 811 - 814.

26 - CARNAGHAN R.B.A.

Groundnut toxicity
Vét. Rec. , 1962 , 74 , 34 , p 925.

27-CARNAGHAN R.B.A. ; HARTLEY R.D. and O'KELLY (J.)

Toxicity and fluorescence properties of aflatoxins
Nature , London , 1963 , 200 , p 1101

28 - CLEMENTS N.L. ;

Rapid confirmatory test for aflatoxin B₁ , Using *Bacillus megaterium*.
J.A.O.A.C. , 1968 , 51 , pp 1192 - 1194.

29 - COADY A.

Tropical cirrhosis and hepatoma
J. Roy. Coll. Physns , 1976 , 10 , 2 , pp 133 - 144.

30 - CUCULLU A.F. , LEE L.S. ; MAYNE R.Y. et GOLDBLATT L.A.

Determination of aflatoxins in individuals peanuts and peanuts sections.
J. Am. Oil Chem. Soc , 1966, 43 , pp 89 - 92.

31 - DICKENS J.W.

Approches d'une solution au problème de l'aflatoxine à travers la recherche et l'information.
Oléagineux , 1975 , 30 , 12.

32 - DICKENS J. W. and PATTEE H.E.

The effects of temperature and moisture on aflatoxin production in peanuts inoculated with a toxic strain of *Aspergillus Flavus*.
Tropical Science , 1966 , 8 , 11 , pp 11 - 12 .

- 33 - DIENER U.L. and DAVIS N.D.
Aflatoxin production by Isolates of *Aspergillus flavus*.
Phytopathology , 1966 , 56 , 12 , pp 1390.
- 34 - DIENER U.L., DAVIS N.D. ; SALMON W.D. and PRICKET C.O.
Toxin producing *Aspergillus* Isolates from domestic peanuts.
Science , 1963 , 142 , p 1492.
- 35 - DVORACKOVA I.
Aflatoxin and encephalopathy with fatty degeneration of viscera (Reye)
ANN. Nutr. Alim. 1977 , 31 , pp 977 - 990.
- 36 - EL-ZAWARI M. ; MOUBASHER A. ; MORAD A. and EL KADY I.
Mutagenic effects of aflatoxin B1.
ANN. Nutr. Alim. 1977, 31 , pp 859 - 866.
- 37 - EUZEBY J.
Cours magistral donné à l'EISMV - 1974.
- 38 - FERRANDO R.
Quelques aspects généraux du problème des aflatoxines
Méd. Chir. Digest.1975 , 4 , sup 2, pp 59 - 60.
- 39 - FERRANDO R. ; HENRY N.
Déséquilibre de la ration et aflatoxicose
ANN. Nutr. Alim. , 1977, 31 , pp 701 - 710.
- 40 - FERRANDO R. ; MURTHY T.R.K. ; HENRY N. ;
Aflatoxine et carence en vitamine D3 chez le caneton.
Rev. Méd. Vét.1975 , 126 , p 1259
- 41 - FERRANDO R. ; NDIAYE A.L. ; HENRY N. ; FOURLON C. et GAUTHIER F.
Influence d'un prétraitement du caneton par le D.D.T. sur sa réaction ultérieure vis-à-vis d'un tourteau d'arachide pollué par *A. flavus*.
C.R.Acad. Sci. PARIS 1974 , 279 (série D) , p 1131.

42 - FERRANDO R. ; TRUBAUT R.

La toxicité de relais. Nouvelle approche méthodologique d'évaluation toxicologique des additifs aux aliments des animaux.

C.R. Acad. Sci. PARIS , 1972 , (série D) 275 ; p 279.

43 - FOY H. ; GILLMAN T. ; KONDI A. and PRESTON J. K.

Hepatic injuries in riboflavin and pyridoxin deficient baboons- Possible relations to aflatoxin induced hepatic cirrhosis and carcinoma in africans.

Nature, London , 1966, 212 , (5059) , p 150.

44 - FRAYSSINET C.

Méthode de contrôle des teneurs en aflatoxine des aliments.

Sympos. C.R.C.N.C. villejuif , 1966 , pp 70 - 73

Rev. Méd. Vét. Pays tropicaux 1975 , 28 (3)

45 - GOLDBLATT L.A. -

Aflatoxin - Scientific background , control and implications -

GOLDBLATT L.A. (Edit.). Academic Press - New-York and London, 1969.

45 - FRIOT D. , CALVET H. ; DIALLO S. et WANE M.

Tourteau d'arachide détoxifié dans l'alimentation des volailles.

Rev. Méd. Vét. pays tropicaux , 1975 , 28 (3)

47 - GOLDBLATT L.A. :

Removal of aflatoxin from peanut products with acetone - Hexane - water solvent

In "Mytoxins in foodstuffs" : proceeding of a symposium held at Massachusetts Institute of technology, Mars 18 and 19 , 1964

WOGAN G.N. (Edit.) Cambridge, Mass, M.I.T. Press, 1965, 291 p.

48 - GREY W.V.

Groundnut toxicity

Vet. Rec. 1961 , 73 (36) , 865

49 - HAMILTON P.B. ; TUNG H.T. ; WYATT R.D. and DONALDSON W.E.

Inter action of dietary aflatoxin with some vitamin deficiencies

Poultry Science 1974 , 53 p 871.

- 50 - HELME J.P. et PREVOT A.
Méthode d'élimination des aflatoxines dans les produits oléagineux
Méd. Chir. Dig. 1975 , sup 2 , pp 61 - 63.
- 51 - HIGGINSON J.
The geographical pathology of primary liver cancer
Cancer Res , 1963 , 23 , p 1624.
- 52 - HISCOCKS E.S.
The importance of molds in the deterioration of tropical food and
food stuffs. In "Mycotoxins in food stuffs " Proceeding of a symposium
held at the Massachusetts Institute of technology, Mars 18 - 19, 1964.
WOGAN G.N. (Edit.) Cambridge, Mass, M.I.T. Press, 1965 ; 291 p.
- 53 - HOWARTH B. ; WYATT J.R. and R.D.
Effects of dietary aflatoxins on fertility, hatchability and progeny
performance of broiler breeder hens.
Appl. Environ. Microbiol. 1976 , 31 (5), pp 680 - 684.
- 54 - HUFF W.E. ; WYATT R.D. and HAMILTON P.B.
Effects of dietary aflatoxin on certain egg yolk parameters.
Poultry Science 1975 , 54 , pp 2014 - 2018.
- 55 - IONGH (H. de) ; BERTHUIS R.K. ; VLES R.O. ; BARRET C.B. and ORD W.O.
Investigation of the factor in groundnut meal responsible for
"turkey X disease"
Biochem. Biophys. Acta 1965 , 65 , pp 548 - 561.
- 56 - JACKSON E.W. ; WOLF H. ; SINNHUBER R.O.
The relationship of hepatoma in rainbow trout to aflatoxin conta-
mination and cotton seed meal.
Cancer Res. , 1968 , 28 (5) ; pp 987 - 991.
- 57 - JEMMALI M.
Les mycotoxines contaminants naturels. In "les mycotoxines "
Colloque INSERM , Lille , 1975 , pp 27 - 38.

58 - JONES B.D.

Methods of aflatoxin analysis, Report G-70

Tropical Products Institute, 56/62 - Gray's Inn Road, London
WC 1 x 8 LU, U.K., 58 pp.

59 - KRISHNAMACHART K.A.V.R. ; RAMES BHAT V. ; NAGARAJAN V. ; TILAK T.B.G.
and TULPULE P.G.

The problem of aflatoxic human disease in parts of India
- Epidemiological and ecological aspects.

ANN. Nutr. Alim. 1977, 31, pp 991 - 996.

60 - KROGH P.

Mycotoxin tolerance in food stuffs

Ann. Nutr. Alim. 1977, 31 pp 411 - 414.

61 - LANDERS K.E. ; DAVIS N.D. ; DIENER U.L.

Influence of atmospheric gases on aflatoxin production by *Aspergillus*
Flavus

Phytopathology, U.S.A., 1976, 57 (10) pp 1086 - 1090.

62 - LE BARS J.

Ecologie des moisissures toxigènes

Cah. Nutr. Diet. 1976, Sup 2, pp 23 - 29.

63 - LOOSMORE R.M. and HARDLING J.D.J.

A toxic factor in Brazilian groundnut causing liver damage in pigs.

Vet. Rec. 1961, 73, pp 1362 - 1364.

64 - LÖTZCH R. and LEISTNER L.

Transmission of aflatoxin into eggs and egg products

Ann. Nutr. Alim. 1977, 31, pp 499 - 508

65 - MANN G.E. ; GARDNER H.K. ; BOOTH A.N. and GUMBANN M.R.

Aflatoxin inactivation - chemical and biological properties of
ammonia and methylamine treated cotton seed meal.

J. AGR. FOOD CHEM. 1971, 19 (6), pp 1155 - 1158.

66 - MAJUMBER S.K. ; NARASIMHAN and PARPIA H.A.B.

Micro-ecological factors of microbial spoilage and the occurrence
of mycotoxins on stored grains. In "Mycotoxins in food stuffs".
WOGAN G.N. (Edit.) Cambridge, Mass, MIT Press, 1965 ; 291 p.

- 67 - MASIMANGO N. RAMAUT J.L. et REMACLE J.
Production de l'aflatoxine B1 In vitro en fonction des diverses conditions de culture.
Ann. Nutr. Alim. 1977 , 31 , pp 583 - 605.
- 68 - Mc KINNELLY I.D. ; CAVANAGH G.C.
The american oil chemists' society 's SMALLEY mycotoxin check sample program : an evaluation
Ann. Nutr. Alim. 1977 , 31 , pp 519 - 529.
- 69 - Mc KINNEY J.D. , CAVANAGH G.C. ; BELL J.T. ; HOVERSLAND A.S. ; NELSON D.M. ; PEARSON J. and SELKIRK P.J.
Effects of ammoniation on aflatoxins in rations fed lactating cows.
J.A.O.C.S. 1973 , 50 , pp 79 - 84.
- 70 - MICHON J. ; PRINCE A.M. ; SZMUNESS W. ; DEMAILLE J. ; DIEBOLT G. ; LINHARD J. ; GUENUM C. et SANKALE M.
Cancer primitif du foie et infection par l'hépatite B au Sénégal.
Comparaison des sujets cancéreux avec deux groupes témoins.
Biomed. Express. 1975 , 23 , 7 , pp 263 - 266.
- 71 - MOUBASHER A.H. ; EL KADY I.A. and SHORIET A.
Toxicogenic aspergillus isolates from different sources in Egypt.
Ann. Nutr. Alim. 1977 , 31 pp 607 - 615.
- 72 - MOULE Y.
Mécanisme d'action des mycotoxines
Ann. Nutr. Alim. 1977 , 31, pp 803 - 810.
- 73 - NINARD B. ; HINTERMANN J.
Les tumeurs de la trachée hépatique chez le porc au Maroc.
Bull. Inst. Hyg. du Maroc , 1965, 5 , pp 49 - 57.
- 74 - OETTLE A. G.
The aetiology of primary carcinoma of the liver in Africa : a critical appraisal of previous ideas with an outline of the mycotoxin hypothesis.
S. Afr. Méd. 1965 , 39 , pp 817 - 825.

- 75 - PATERSON J.S. ; CROOK J.C. ; JHAND A. ; LEWIS G. and ALLCROFT R.
Groundnut toxicity as the cause of exsudative hepatitis (oedema disease) of guinea-pigs.
Vet. Rec. , 1962 , 74 (22) , p 639.
- 76 - PATTERSON D.S.P. ; ROBERTS B.A. ; SHREEVE B.J. ; WRATHALL A.E. ; GITTER M.
Aflatoxin , Ochratoxin, and zearalenone In animal feed stuffs : some clinical and experimental observations .
Ann. Nutr. Alim. , 1977 , 31 , pp 607 - 615.
- 77 - PAYEN J.
Mycoflore toxique
Cah. Nutr. Diet. 1972 , sup 2 , pp 11 - 14.
- 78 - PAYET M. ; CAMAIN R. et PENE P.
Le cancer primitif du foie. Etude critique à propos de 240 cas.
R.I.H. 1956 , 6 (1) , pp 1 - 86.
- 79 - PAYET M. ; SANKALE M. ; SAIMOT G. ; LAROUZE B. et BROCHARD C.
Facteurs étiologiques du cancer primitif du foie - Place de l'antigène australaia." In "Les cancers primitifs du foie" 40e Congrès français de Médecine - Dakar, 1975 . Masson et Cie. édit. , 1976.
- 80 - PEERS F.G. and LINSELL C.A.
Aflatoxins and human primary liver cancer.
Ann. Nutr. Alim. 1977 , 31 , pp 1005 - 1018.
- 81 - PENE P. et BOISSON M.E.
Cirrhoses et cancers primitifs du foie en zones tropicales. In "Les cancers primitifs du foie" 40e Congrès français de Médecine. DAKAR 1975 - Masson et Cie , Edit. 1976 , p 77.
- 82 - POHLAND A.E. ; YIN L. and DANTZMAN J.G.
Rapid chemical confirmatory method for aflatoxin B1 .
I - Development of the method
J.A.O.A.C. 1970 , 53 , pp 101 - 102.
- 83 - PREVOT A.
Evolution et méthodes d'élimination du aflatoxines dans les produits oléagineux (huiles et tourteaux)
Rev. Franç. Corps Gras , 1974, 21° (2), pp 91 - 103.

- 84 - PREVOT A. ; BIOCH C. et FATOUX P.
Problèmes posés par la présence d'aflatoxine - Echantillon des
graines et tourteaux d'arachides.
Rev. Franç. Corps Gras, 1974 , 21 (10) , pp 567 - 572.
- 85 - PRZYBYLSKI W.
Formation of aflatoxin derivatives on thin layer chromatography plates
J.A.O.A.C. , 1975, 58 , pp 163 - 164.
- 86 - PURCHASE I.F.H.
Acute toxicity of aflatoxins M1 and M2 in one day old ducklings
Food Cosmet Toxicol. 1967, 5 , pp 339- 342.
- 87 - RIVIERE R. et PAGOT J.
Hépatites chez les porcs
Sympos. Cent. Rech. Cell. Norm. Cancer, Villejuif, 1966; PP 31-40
- 88 - SERCK-HANSEN A.
Aflatoxin induced fatal hepatitis ? A case report from Uganda
Arch. Environ. Health, 1970, 20 , pp 729 - 731.
- 89 - SHANK R.C. ; BHAMARAPRAVATI N. ; GORDON J.E. and WOGAN G.N.
Dietary aflatoxins and human liver cancer IV : Incidence of primary
liver cancer in two municipal populations in Thailand.
Food Cosm. Toxicol. 1972 b, 10 , 171 - 179.
- 90 - SHANK R.C. ; GORDON J.E. ; WOGAN G.N. ; NONDASUTA A. and SUBHAMANI B.
Dietary aflatoxins and human liver cancer III . Field survey of several
Thai families for ingested aflatoxins.
Food Cosm. Toxicol., 1972 a , 10 , pp 71 - 84.
- 91 - TIEMSTRA P.J.
A study of the variability associated with sampling peanuts for
aflatoxin
J.A.O.C.S. , 1969 , 46 , pp 667 - 672.

- 92 - VAN ZYTVELD W.A. ; KELLY D.C. et DENNIS S.M.
The presence of aflatoxin or their metabolites in liver and skeletal muscles of chicken.
Poultry Science ; 1970 ; 49 , pp 1330 - 1356.
- 93 - VELAN M. : REYNAUD J.
Sur le destin de l'aflatoxine au cours du raffinage par distillation de l'huile d'arachide.
Rev. Franç. Corps Gras , 1967 , 14 (5) , pp 305 - 310.
- 94 - VERRET M.J. ; WINBUSH J. ; REYNALDO E.F. and SCOTT W.F.
Collaborative study of the chicken embryo bio assay for aflatoxin B1
J.A.O.A.C. 1973 , 56 , pp 901 - 904.
- 95 - WANG C. ; LING K. and TUNG T.
The effects of aflatoxin on native ducklings with special reference to single dose bio assay.
J. Form. Méd. Ass. 1966 , 65 , AA pp 561 - 569.
- 96 - WOGAN G.N.
Expérimental toxicity and carcinogenicity of aflatoxins
In "Mycotoxins in foodstuffs" , WOGAN G.N. (Edit.) , the M.I.T. Press , Cambridge , Mass, 1965, pp 163 - 173.
- 97 - WHITAKER T.B. ; DICKENS J.W. and WISER E.H.
Design and analysis of sampling plans to estimate aflatoxin concentrations in Shelled peanuts.
J.A.O.C.S. 1970 , 47 , pp 501 - 504.
- 98 - WISEMAN H.G. and JACOBSON W.C.
Cités par LÖTZCH et Coll. (64).

TABLES DES MATIERES

	<u>PAGES</u>
INTRODUCTION	2
Première partie : ASPERGILLUS FLAVUS ET SES TOXINES . . .	4
I - LA MOISSISSURE.-	5
1.1. - Conditions de développement	5
1.1.1. - Facteurs physiques	5
1.1.2. - Facteurs chimiques	7
1.2. - Conditions de toxlnogénèse	8
1.2.1. - La température	10
1.2.2. - Influence du substrat	10
1.2.3. - Influence de l'atmosphère	12
1.2.4. - Influence du pH	12
1.2.5. - Influence de la lumière	12
II - ETUDE DE LA TOXINE	14
11.1. - Propriétés physiques	14
11.1.1. - Solubilité	14
11.1.2. - Fluorescence en lumière ultra violette .	14
11.1.3. - Autres caractères physiques	15
11.2. - Propriétés chimiques	15
11.2.1. - Structure chimique	15
11.2.2. - Réactions chimiques	16
III - METHODES DE DOSAGE	18
111.1. - Méthodes physico-chimiques	18
111.1.1. - Chromatographie sur papier	18
111.1.2. - Chromatographie sur couche mince . . .	18
111.2. - Tests biologiques	25
111.2.1. - Utilisation du caneton	25
111.2.2. - Test utilisant l'embryon de poulet	25
111.2.3. - Test utilisant les bactéries	26
IV - ECHANTILLONNAGE DES ALIMENTS.-	26

Deuxième partie : LE DANGER REPRESENTÉ PAR LES AFLATOXINES CHEZ LES ANIMAUX ET CHEZ L'HOMME.-	28
I - MANIFESTATIONS DE TOXICITE CHEZ LES ANIMAUX	29
1.1. - Toxicité aigüe	29
1.2. - Toxicité chronique	29
1.2.1. - Manifestations non cancéreuses	30
1.2.2. - Manifestations cancéreuses	30
1.3. - Citotoxicité des aflatoxines	31
II - LES AFLATOXINES DANS LES PRODUCTIONS ANIMALES	31
III - DANGERS CHEZ L'HOMME	38
III.1. - Toxicité aigüe	38
III.2. - Problèmes de l'étiologie du CPF en zone tropicale	39
Troisième partie : CONSEQUENCES ECONOMIQUES ET METHODES PREVEN- TIVES DE LA PRESENCE DES AFLATOXINES DANS LES ALIMENTS.-	49
I - CONSEQUENCES ECONOMIQUES	50
II - LUTTE CONTRE LA PRESENCE DES AFLATOXINES DANS LES ALIMENTS	52
II.1. - Méthodes préventives	53
II.1.1. - Avant la récolte	53
II.1.2. - A la récolte	54
II.1.3. - Après la récolte	54
II.2. - Méthodes de détoxification	63
II.2.1. - Elimination des aflatoxines par traitement physique	63
II.2.2. - Elimination des aflatoxines par le traitement chimique	64
II.2.3. - Elimination des aflatoxines dans les huiles	67
CONCLUSION	70

Le Candidat

VU

LE DIRECTEUR

de l'Ecole Inter-Etats des Sciences et
Médecine Vétérinaires

LE PROFESSEUR RESPONSABLE

de l'Ecole Inter-Etats des Sciences et
Médecine Vétérinaires

VU

LE DOYEN

de la Faculté de Médecine
et de Pharmacie

LE PRESIDENT DU JURY

Vue et permis d'imprimer

Dakar, le

LE RECTEUR PRESIDENT DU CONSEIL PROVISOIRE DE L'UNIVERSITE DE DAKAR