UNIVERSITÉ DU BURUNDI
GRENIER DU SAVOIR DU BURUNDI
Dépôt institutionnel officiel
https://repository.ub.edu.bi

# Evaluation du niveau de contamination des farines alimentaires consommées au Burundi par les aflatoxines

**Ndayishimiye, Espérance; Sous la Direction de : Dr Ngezahayo Jérémie**

**2024**
UB, EANSI
https://repository.ub.edu.bi/handle/123456789/1981

Document téléchargé depuis le **Grenier du Savoir du Burundi** — https://repository.ub.edu.bi

**UNIVERSITE DU BURUNDI**

**EAST AFRICAN NUTRITIONAL SCIENCES INSTITUTE(EANSI)**

**DEPARTEMENT : SCIENCES DES ALIMENTS ET NUTRITION**

# EVALUATION DU NIVEAU DE CONTAMINATION DES FARINES ALIMENTAIRES CONSOMMEES AU BURUNDI PAR LES AFLATOXINES : CAS DES ANALYSES FAITES SUR 27 ECHANTILLONS PRIS DANS LES PROVINCES DE BUBANZA, BUJUMBURA ET CIBITOKE


**Par :**

**NDAYISHIMIYE Espérance**


**Sous la Direction de** :

Dr NGEZAHAYO Jérémie

Mémoire présenté défendu en vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences des Aliments et Nutrition

**Spécialité : Technologie et Qualité des Aliments**

**Bujumbura, Août 2024**

*Evaluation du niveau de contamination des farines alimentaires consommées au Burundi par les aflatoxines*

---

**IDENTIFICATION DES MEMBRES DU JURY**

Dr BANZUBAZE Emmanuel : Président

NTEZIRYAYO Vincent Msc. : Secrétaire

Dr NGEZAHAYO Jérémie : Membre

**DEDICACES**

A Dieu Tout Puissant ;

A mes chers parents ;

A la famille BANZIRIYUBUSA ;

A mes chers frères et sœurs ;

A mon mari ;

A mes enfants;

A mes cousins et cousines ;

A tous ceux qui me sont chers ;

Je dédie ce mémoire.

**REMERCIEMENTS**

Ce travail est le fruit de plusieurs collaborations. Tout d'abord, louange à Dieu Tout- puissant, qui était avec nous tout au long de nos vies et nous a inspiré les bons pas et les justes réflexes, et qui nous a guidé dans notre étude et nous a donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont aussi :

- A Monsieur Dr. Jérémie NGEZAHAYO, Directeur et encadreur académique pour ses conseils, ses encouragements, sa patience et sa compétence qui nous ont permis de bien mener ce travail, le suivi et l'orientation dont nous avons pu bénéficier de sa part. Je tiens à vous remercier très vivement pour avoir inspiré et dirigé ce travail malgré vos multiples occupations. Cher encadreur, je vous remercie pour m'avoir accueillie, encadrée et dirigée avec bienveillance. Vos riches conseils, vos encouragements et surtout votre disponibilité, votre expérience et votre compétence m'ont été d'un grand intérêt. Pour tout ce que vous m'avez fait, soyez rassuré de ma sincère gratitude et ma profonde reconnaissance.
- A mes parents, qui ont combattu dès ma naissance jusqu'aujourd'hui, malgré leur niveau économique modéré.
- A mes frères et sœurs, bons collaborateurs, me sont des exemples clairs pour la vie sociale et académique. Qu'ils trouvent ici la reconnaissance de leur serviabilité.
- A mon mari qui a accepté que je continue le cursus académique malgré mes obligations et engagements sociaux.
- A mes enfants qui ont gardé l'amour et confiance en moi malgré mon absence à côté d'eux.
- A ma cousine Espérance UWIMANA qui a participé matériellement dans la réalisation de ce travail ; qu'elle trouve ici l'expression de ma gratitude la plus particulière.
- A mes camarades de classe de tous les niveaux pour leur collaboration et contribution académique et/ou sociale.
- A mes enseignants depuis l'école primaire jusqu'au Master. Qu'ils trouvent ici le fruit de leurs efforts.
- A l'ensemble du personnel enseignant de l'EANSI pour leur soutien et la transmission du savoir à notre endroit.
- A l'unité de gestion de l'EANSI, qui, en collaboration avec la BAD nous ont soutenus financièrement.
- A la direction du Centre National de Technologie Alimentaire (CNTA) qui m'a accueillie et m'a donnée l'équipement nécessaire à la réalisation de ma recherche.

Que toutes les personnes qui m'ont aidée, trouvent dans ce travail, le fruit de leurs efforts.
Enfin, ne pouvant pas citer tous ceux et celles qui m'ont soutenue, je leur adresse mes remerciements les plus sincères.

NDAYISHIMIYE Espérance

*Evaluation du niveau de contamination des farines alimentaires consommées au Burundi par les aflatoxines*

**RESUME**

La qualité des aliments est une préoccupation des gouvernements et des consommateurs dans la mesure où les aliments sont toujours exposés à de nombreuses contaminations par des parasites, des microorganismes et plus dangereusement par des toxines issues des sécrétions de certains microorganismes. Les plus dangereuses de ces mycotoxines étant les aflatoxines produites par des champignons *Aspergillus parasiticus, Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger*, la méconnaissance de ces toxines par les producteurs, les industriels et les consommateurs est l'une des causes de leur ingestion car bon nombres de gens n'en tiennent pas comptent dans différents procédés, dès la production à la consommation des aliments alors qu'elles sont mutagènes, cancérigènes et provoquent de nombreuses maladies mortelles .

Le but de cette étude était d'analyser quelques échantillons de farines dérivées des céréales et des graines oléagineuses constituant principaux de l'alimentation de la plus grande grande partie de la population burundaise, pris dans des zones climatiques différentes des provinces de Bubanza, Bujumbura et Cibitoke et d'évaluer le niveau de contamination de ces farines.

L'analyse s'est faite par chromatographie liquide à haute performance (HPLC, *high performance liquid chromatography*) selon la méthode d'analyse proposée et validée par l'Association Française de Normalisation (NF V03-110 Mai 2010) et adoptée par le CNTA selon les normes régionales de l'EAC ES 665: 2017.

Le niveau de contamination est plus élevé pour les échantillons pris dans la plaine de l'Imbo avec un score de 66,5 % ; 50 % étant les échantillons issus des graines oléagineuses, 33,33 % sont des céréales et 16,6 % étant des échantillons de bouillie composée (céréales + oléagineuses). Le niveau de contamination dans la zone de Mirwa est moins accentué et la contamination concerne surtout les céréales (33,33 %) alors que dans la zone de montagne, ce sont les farines de bouillie à base de soja et bouillie complète qui sont contaminées à des concentrations très petites. Aucun échantillon de farine de manioc n'a montré une concentration en aflatoxine détectable par le logiciel de HPLC. Les résultats de l'analyse aident à éveiller les esprits des consommateurs, producteurs et industriels de la surveillance des produits à graines en général et des farines en particulier afin de prévenir la contamination aux aflatoxines.

L'analyse par SPSS confirme la relation positive et significative entre la teneur en aflatoxine et les conditions climatiques ainsi que le type d'aflatoxine pour une farine alimentaire donnée.

**Mots clés** : Farines alimentaires, mycotoxines, aflatoxines, HPLC

**ABSTRACT**

Food quality is a concern for governments and consumers alike, since food is always exposed to contamination by parasites, microorganisms and, more dangerously, toxins produced by the secretions of certain microorganisms. The most dangerous of these mycotoxins are the aflatoxins produced by the fungi Aspergillus parasiticus, Aspergillus flavus and Aspergillus niger. Lack of awareness of these toxins on the part of producers, industrialists and consumers is one of the causes of their ingestion, as many people fail to take them into account in various processes, from food production to consumption, even though they are mutagenic, carcinogenic and cause numerous fatal illnesses.

The aim of this study was to analyze a few samples of flour derived from cereals and oilseeds, the main foodstuffs for most of the Burundian population, taken from different climatic zones in the provinces of Bubanza, Bujumbura and Cibitoke, and to assess the level of contamination of these flours.

The analysis was carried out by high-performance liquid chromatography (HPLC) using the analytical method proposed and validated by the Association Française de Normalisation (NF V03-110 May 2010) and adopted by the CNTA in accordance with EAC regional standards ES 665: 2017.

The level of contamination is highest for samples taken in the Imbo plain, with a score of 66.5%; 50% being samples from oilseeds, 33.33% from cereals and 16.6% from compound porridge (cereals + oilseeds). The level of contamination in the Mirwa zone is less pronounced, with cereals accounting for most of the contamination (33.33%), whereas in the mountain zone, soy-based and wholemeal porridge flours are contaminated at very low concentrations. None of the cassava flour samples showed an aflatoxin concentration detectable by HPLC software.

The results of the analysis help to raise awareness among consumers, producers and industrialists of the need to monitor seed products in general and flour in particular, in order to prevent aflatoxin contamination.

SPSS analysis confirms the positive and significant relationship between aflatoxin content and climatic conditions as well as aflatoxin type for a given food flour.

Key words: Food flours, mycotoxins, aflatoxins, HPLC.

**TABLE DES MATIERES**

**IDENTIFICATION DES MEMBRES DU JURY** ..... i
**DEDICACES** ..... ii
**REMERCIEMENTS** ..... iii
**RESUME** ..... iv
**ABSTRACT** ..... v
**TABLE DES MATIERES** ..... vi
**LISTE DES TABLEAUX** ..... ix
**LISTE DES FIGURES** ..... x
**LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS** ..... xi
**AVANT PROPOS** ..... xii
**CHAPITRE I. INTRODUCTION GENERALE** ..... 1
I.1. Introduction ..... 1
I. 2. Problématique ..... 3
I. 3. Objectifs de l'étude ..... 4
I. 3.1. Objectif général ..... 4
I. 4. Hypothèses ..... 5
I. 5. Question de recherche ..... 5
I. 6. Justification du sujet ..... 5
I. 7. Cadre conceptuel ..... 6
**CHAPITRE II. REVUE DE LA LITTERATURE** ..... 7
II.1. Généralités sur les farines ..... 7
II.1.1. Définition et types de farines ..... 7
II.2. Généralités sur les mycotoxines ..... 10
II.2.1. Définition et épidémiologie ..... 10
II.2.2. Aspect général des champignons ..... 11
II.2.3. Les aflatoxines ..... 13
II.3. Structure chimique de différentes molécules d'aflatoxines et mécanisme d'action ..... 14
II.4. Conditions de développement des aflatoxines ..... 16
II.5. Contamination à l'aflatoxine des farines alimentaires ..... 17
II.6. Effets des aflatoxines sur la santé ..... 17
II.7. Effets des aflatoxines sur l'économie ..... 18

II.8. Effets des aflatoxines sur la sécurité alimentaire....19
II.9. Réglementation sur les aflatoxines....19
II.10. Prévention des aflatoxines dans les produits alimentaires....20
II.11. Traitement des produits alimentaires contaminés par les aflatoxines....20
**CHAPITRE III: MATERIELS ET METHODES**....23
III.1. Lieu d'étude....23
III.2. Type d'étude....25
III.3. Population cible....26
III.4. Techniques d'échantillonnage....26
III.5. Critères d'échantillonnage....26
III.5.1. Critères d'inclusion....26
III.5.2. Critères d'exclusion....26
III. 6. Considération éthique....26
III. 7. Les échantillons analysés....27
III. 8. Méthodes d'analyse des données....27
III.9. Les échantillons analysés....27
III.9.1. Matériels de laboratoires utilisés....28
III.9.2. Produits et réactifs utilisés....29
III.9.3. Appareillage....29
III.9.4. Méthode d'analyse au laboratoire....29
III.9.5. Principe....30
III.9.6. Préparation des solutions à utiliser....30
III.9.7. Préparation des standards....30
III.9.8. Mode opératoire....32
**CHAPITRE IV. PRESENTATION DES RESULTATS ET DISCUSSION**....42
IV.1. Présentation des résultats....42
IV.1.1. Présentation des résultats à la sortie du chromatographe....42
IV.1. 2. Intégration des pics et calcul des concentrations....43
IV.1.3. Détermination de la concentration en aflatoxines....43
IV.1.4. Présentation de la moyenne générale des résultats....44
IV.2. Discussion des résultats....47
IV.2.1. Niveau de contamination selon les zones climatiques....47
IV.2.2. Niveau de contamination selon la nature de farine....48

IV.3. Analyses statistiques des concentrations en aflatoxines des échantillons collectés.....49
**CHAPITRE V. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS** .....53
V.1. CONCLUSION .....53
V.2. RECOMMANDATIONS.....53
**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....55**
**ANNEXES.....61**

**LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1: Valeurs nutritives des produits à graines courantes dans l'alimentation au Burundi (Selon Bastianelli et al., 2009). ..... 8

Tableau 2: Composition nutritionnelle da la farine de manioc blanche ( Diallo et al., 2015) ..... 8

Tableau 3: Quelques toxines secrétées par les principaux genres de champignons (Gauthier, 2016) ..... 13

Tableau 4: Méthode d'élimination des aflatoxines (fragments) ..... 21

Tableau 5. Type de farine selon leur nature et les zones climatiques d'échantillonnage ..... 28

Tableau 6 : Préparations des standards ..... 32

Tableau 7: Séquence des activités pendant l'analyse HPLC ..... 40

Tableau 8: Résultats d'analyse des échantillons ..... 45

Tableau 9: Analyse comparative des concentrations en aflatoxines selon les zones climatiques ..... 50

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Le schéma général de la production de farine de maïs (adapté de Parmentier, 1989).....9
Figure 2: Structures chimiques des différentes molécules d'aflatoxines (Lahouar, 2016) .....15
Figure 3: Carte géographique du Burundi.....24
Figure 4: Solution mère d'aflatoxine utilisée au CNTA .....31
Figure 5: Photographie d'une balance analytique utilisée pour peser les échantillons.....33
Figure 6: Photocopie de cylindre de centrifugation et extraction des aflatoxines des échantillons.....33
Figure 7: Photographie d'un agitateur électrique utilisé .....34
Figure 8: Photographie de la centrifugeuse utilisée au cours du présent travail .....34
Figure 9: Purification par les colonnes d'immuno-affinitiné .....35
Figure 10: Photographie de la purification-élution .....37
Figure 11: Photographie de l'appareillage de HPLC du CNTA .....38
Figure 12: Séquence des activités pendant l'analyse HPLC .....41
Figure 13: Exemple de chromatogramme de solution standard d'aflatoxines à 20 ppb .....42
Figure 14: Exemple d'un chromatogramme d'un échantillon d'arachide pris dans la région de la plaine .....43
Figure 15: Droite d'étalonnage lors du dosage des aflatoxines .....44
Figure 16: Niveau de contamination selon les zones climatiques.....48
Figure 17: Niveau de contamination selon la nature de farine.....48

## LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique
AFB : Aflatoxines du type B
AFG : Aflatoxines du type G
AFM : Aflatoxines du type M
CAC : Codex Alimentarius commission
CNTA : Centre National de technologie alimentaire
CE : Commission européenne
Créf : Courbe de référence
EAC : East African Community
EANSI : East African Nutritional Sciences Institute
HCl : Acide chlorhydrique
HPLC : High Performance Liquid Chromatography
LC : liquid chromatography
NaOH : Hydroxyde de sodium.
PBS : Phosphate-buffered saline
pH : Potentiel d'hydrogène
ppb : Partie par billion
OMS : Organisation Mondiale de la santé
UV : Ultra-violet

## AVANT PROPOS

La réalisation de ce travail s'inscrit dans le cadre d'un mémoire de fin d'études de Master de recherche en Nutrition et Sciences des aliments, option : ''Technologie et qualité des aliments''.

L'idée de l'étude est venue du fait que peu d'études en rapport avec le niveau de contamination des aliments en aflatoxines sont déjà sur place au Burundi, alors que la grande proportion des composantes de l'alimentation des burundais en général et plus particulièrement dans la région Ouest du Burundi (Bubanza, Bujumbura et Cibitoke) est constituée des farines présentant des potentialités de contamination par les aflatoxines. De plus, la contamination en aflatoxine est à l'origine de différentes maladies, ainsi que la perturbation de la sécurité alimentaire et des économies.

L'étude a été menée sur 27 échantillons de différentes farines consommées dans les provinces de Bubanza, Bujumbura et Cibitoke. Cette zone a été choisie du fait que non seulement l'alimentation est constituée de farines de céréales, oléagineuses et tubercules en grande partie, mais également la zone présente au moins trois zones climatiques différentes, permettant une analyse comparative de concentrations en aflatoxines selon les zones climatiques.

La présente étude vise à analyser qualitativement et quantitativement les échantillons de farine céréales (maïs ordinaire, maïs décortiqué), farine de graines oléagineuse (soja traité pour bouillie, soja cru), farine complète (composée de céréales et de graines oléagineuse), susceptibles d'être attaqués par les aflatoxines si les conditions climatiques sont favorables. Des analyses de farines de manioc ont été menées pour s'assurer du non potentialité de contamination par les aflatoxines que présente ce type d'aliment. Le travail est ainsi intitulé « Evaluation du niveau de contamination des farines alimentaires consommées dans les provinces de Bubanza, Bujumbura et Cibitoke : étude effectuée sur 27 échantillons de farines de maïs, soja, arachide, manioc, et des farines complètes ».

L'étude a été menée bien que les difficultés n'ont pas manqué surtout d'ordre financier, ce qui nous a obligés de travailler sur une taille réduite, et une petite gamme de mycotoxines.

# *Evaluation du niveau de contamination des farines alimentaires consommées au Burundi par les aflatoxines*

## CHAPITRE I. INTRODUCTION GENERALE

### I.1. Introduction

Les produits vivriers forment une composante indispensable de l'alimentation. Alors que l'innocuité liée à l'utilisation des aliments est l'un des piliers de la sécurité alimentaire, après la disponibilité, l'accessibilité et la stabilité (West et *al*., 2017), le problème de la qualité hygiénique des produits alimentaires de base est insuffisamment soulevé surtout dans les pays en voie de développement en général et au Burundi en particulier. La qualité est un aspect des aliments non négligeable dans la mesure où l'alimentation doit être adéquate, saine et sans danger sur la santé des consommateurs (Anne, 1996). Aujourd'hui, des ravageurs des champs et des rongeurs des récoltes constituent une menace pour la sécurité sanitaire des aliments car plusieurs maladies dont les maladies diarrhéiques, les cancers et les maladies transmissibles comme les zoonoses sont dues aux conditions hygiéniques non conformes (OMS, 2009). La plupart de ces affections sont causées par la prolifération des contaminants et des agents pathogènes, bactéries ou virus, mais aussi dans d'autres cas par des toxines secrétées par certains champignons : les mycotoxines (Joffin, 2010).

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produites par des champignons, qui peuvent être présents sur une large variété de cultures et plus particulièrement les céréales. Les mycotoxines les plus dangereuses sont connues sous le nom des aflatoxines (Mezhoud, 2023). Leur maitrise est considérée comme un enjeu majeur dans le monde agricole en raison de leurs effets nocifs sur la santé des hommes et des animaux (Magnin et *al.*, 2019*).*

La contamination par l'aflatoxine des principaux aliments de consommation courante, à savoir le maïs, les arachides et le sorgho, atteint des niveaux inacceptables pour la santé dans de nombreux pays d'Afrique (Dieme et *al.*, 2016). La contamination par l'aflatoxine des aliments de consommation courante peut affecter la production du secteur agricole, en général, et chacun des quatre piliers de la sécurité alimentaire (disponibilité, accès, qualité de l'alimentation et régularité), en particulier comme cela a été relevé dans bons nombres des pays (Philizaire et *al.*, 2017*).*

Les mycotoxines telles que les aflatoxines, ochratoxines, etc. sont d'une grande préoccupation sur le plan agricole (Firew T. 2020) et les expositions alimentaires à ces mycotoxines sont associées à de nombreux risques pour la santé : le cancer, la suppression immunitaire, les anomalies digestives, etc. (Fofana et *al*, 2019).

Les aflatoxines, quant à elles, sont des contaminants cancérogènes retrouvées fréquemment dans les denrées alimentaires.

La santé humaine est affectée par la consommation d'aliments d'origine végétale contaminés par des toxines ou sous forme de métabolites de mycotoxines transportés dans les produits alimentaires d'origine animale (Obura, 2013).

Par estimations, environ un quart des cultures mondiales sont affectées par les mycotoxines, entraînant la perte de milliards de dollars par an (Rhoads, 2018).

L'impact des mycotoxines est beaucoup plus important dans les pays en développement surtout en Afrique, et particulièrement dans la région de l'Afrique subsaharienne où l'agriculture est un secteur principal, étant donné que la contamination peut surgir dès le champ de culture, jusqu'au stock de vente ou de consommation (Shareef, 2010).

Le stress à haute température, et les dommages (insectes oiseaux et rats) de la plante hôte sont des facteurs déterminants majeurs dans l'infestation de moisissures et la production de toxines (Hell et *al*, 2007).

De même, des stades spécifiques de croissance des cultures, une mauvaise fertilité des nutriments et du sol, des densités de culture élevées et la concurrence des mauvaises herbes ont été associés à une croissance accrue des moisissures et à la production de toxines (Hell et *al*, 2007).

Des pratiques agricoles caractérisées par l'association des cultures dans une propriété de culture impliquent la concurrence entre les différentes cultures pour un même nutriment, ce qui appauvrit le terrain de culture, et les plantes stressées, donnent une production de mauvaise qualité, ne résistant pas à des attaques par des ravageurs (Goalbaye et *al*., 2023).

L'indisponibilité d'infrastructures appropriées de séchage et l'absence des installations de stockage ainsi que des systèmes de commercialisation et de transport inadéquats sont à l'origine de l'intensification des effets de ces facteurs (Firew, 2020).

D'autre part, l'absence de législations appropriées, les réglementations inadéquates, le mauvais système de surveillance et le manque de capacité de mise en œuvre contribuent à la contamination par les mycotoxines de plusieurs cultures et produits agricoles en Afrique (Firew, 2020).

Les informations sur la prévalence du risque de contamination par l'aflatoxine en Afrique et particulièrement au Burundi sont limitées (Nibasumba, 2016).

Mais les données issues des recherches disponibles, indiquent que les niveaux d'aflatoxine dépassent souvent les limites de tolérance établies pour les aliments de base tels que les céréales (maïs, sorgho, arachide,…) (Dieme et *al.,* 2016).

Une des contraintes majeures plaidant pour cette concentration élevée d'aflatoxines dans les céréales en Afrique est que les conditions climatiques dans cette région sont favorables à la prolifération des Aspergillus et à la production d'aflatoxines. Cette contrainte naturelle est liée à la position géographique de l'Afrique qui est située entre les latitudes 40 °N et 40 °S (Dieme et *al.,* 2016).

Normalement, les consommateurs devraient acheter des aliments qui ne présentent aucun risque sur la santé de leurs familles, mais il n'y a pas de méthode crédible pour s'assurer que la nourriture qu'ils achètent est sans danger dans les pays en développement (Walker et *al.,* 2013*)* .

Le Burundi se situe dans l'Afrique sub-saharienne, et n'est donc pas épargné des dommages causés par les aflatoxines. Cela est dû à son climat majoritairement tempéré. Les pratiques agricoles rurales principales se caractérisent par l'association des plantes dans un même champ de culture, les moyens de transport des produits agricoles sont déplorables et les conditions de stockage pour la plupart des agriculteurs ne sont pas définies, ce qui justifie la prévalence élevée des aflatoxines dans les produits alimentaires, substrats de ces mycotoxines (céréales, oléagineux, tubercules, épices,….) (Jolly et *al.,* 1992*).*

Afin de pouvoir faire face à ces mycotoxines qui dégradent les cultures et les produits alimentaires, mettant ainsi en danger la santé des consommateurs, il est nécessaire de surveiller les teneurs en mycotoxines en général et en aflatoxines en particulier, dans les aliments couramment consommés dans un pays donné (Chibundu, 2018)

## I. 2. Problématique

Les aflatoxines sont des toxines produites naturellement par des champignons.
Les aflatoxines sont produites par des champignons spécifiques : notamment Aspergillus flavus, Apergillus parasiticus et Asprgillus niger ; contaminent de nombreux aliments principalement des céréales tels que les maïs, le sorgho et les arachides, etc. Cette contamination atteint des niveaux inacceptables pour la santé dans de nombreux pays d'Afrique y compris le Burundi, et peut même affecter les gens avant leur naissance dans les pays en voie de développement(Hell & Mutegi, 2011).

Les aflatoxines comptent parmi les substances mutagènes et cancérigènes les plus puissantes connues. Elles sont associées au développement des virus de l'hépatite B et Hépatite C, à l'exposition chronique.(Hell & Mutegi, 2011).

Cette toxine est naturellement présente dans de nombreux produits végétaux du monde entier, tels que les

Ainsi, les producteurs subiront des pertes financières à cause du rejet de leurs produits, de la réduction de leur valeur sur le marché ou de l'impossibilité d'accéder au commerce international, à plus forte valeur.

L'idée de l'étude est venue du fait que peu d'études en rapport avec le niveau de contamination des aliments en aflatoxines sont déjà sur place au Burundi, alors que la grande proportion des composantes de l'alimentation des burundais en général et plus particulièrement dans la région Ouest du Burundi (Bubanza, Bujumbura et Cibitoke) est constituée des farines présentant des potentialités de contamination par les aflatoxines. De plus, la contamination en aflatoxine est à l'origine de différentes maladies, ainsi que la perturbation de la sécurité alimentaire et des économies.

Au Burundi, certains centres de recherche comme l'Organisation de Lutte contre les Aflatoxines au Burundi (OLAB), et l'International Institute of Tropical Agriculture (IITA) ont déjà fait un pas sur la recherche en mycotoxines, mais il y'a toujours un manque de travaux de recherche scientifiques et des résultats de Laboratoire sur l'état des produits alimentaires vendus et consommés sur le territoire du Burundi. Le présent travail vise à contribuer à la disponibilité des données relatives aux mycotoxines pour savoir faire connaissance à quel fléau le pays fait face pour des luttes ultérieures possibles ; l'étude met un accent particulier sur les aflatoxines.

## I. 3. Objectifs de l'étude

### I. 3.1. Objectif général

L'objectif général de l'étude est de contribuer à l'évaluation du niveau de contamination des farines alimentaires, simples et enrichies, issues des unités de transformation et vendues sur les marchés du Burundi.

### I.3.2. Objectifs spécifiques

D'une manière spécifique, l'étude a pour objectifs de :

- Effectuer le contrôle de la qualité mycotoxicologique des farines alimentaires consommées à l'Oues du burundi.
- Vérifier la présence/absence des aflatoxines dans les farines alimentaires vendues sur les marchés et issus des unités de transformations des provinces Bubanza, Bujumbura et Cibitoke.
- Quantifier les aflatoxines présents dans les farines alimentaires vendues sur les marchés et issus des unités de transformations des provinces Bubanza, Bujumbura et Cibitoke en vue d'une comparaison par rapports aux normes nationales, régionales et internationales.

## I. 4. Hypothèses

Le climat, les précipitations, les pratiques agricoles, l'inadéquation des infrastructures, faiblesse de la politique appliquée à la surveillance de la qualité des aliments et l'absence de la réglementation rigoureuse, observés au Burundi, justifiraient la présence des aflatoxines à des concentrations plus ou moins élevées au Burundi en général et particulièrement dans les farines alimentaires consommées dans les provinces de Bubanza, Bujumbura et Cibitoke.

## I. 5. Question de recherche

*Les aflatoxines sont-elles présentes dans les farines alimentaires consommées dans les provinces Bubanza, Bujumbura et Cibitoke ? Si oui, leurs quantités dans les aliments respectent les normes nationales et/ou sous-région ales (EAC)?*

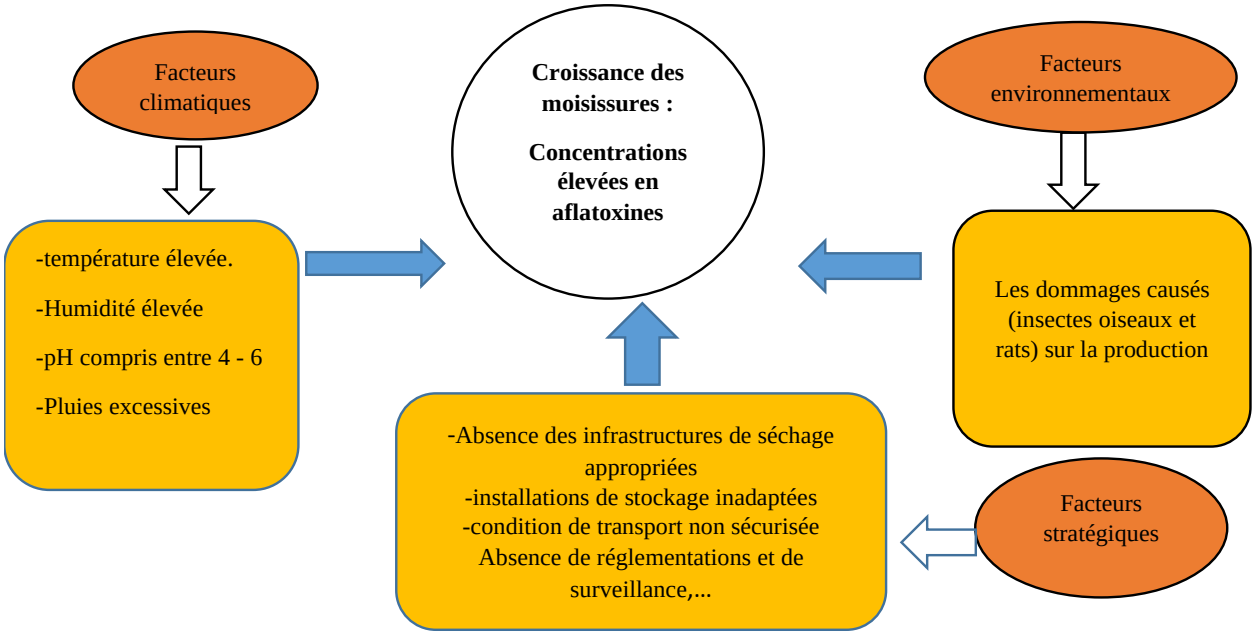
## I. 6. Justification du sujet

La réalisation de ce travail s'inscrit dans le cadre d'un mémoire de fin d'études de Master de recherche en Nutrition et Sciences des aliments, option : ‘‘Technologie et qualité des aliments’’.

La présente étude vise à analyser qualitativement et quantitativement les échantillons de farine céréales (maïs ordinaire, maïs décortiqué), farine de graines oléagineuse (soja traité pour bouillie, soja cru), farine complète (composée de céréales et de graines oléagineuse), susceptibles d'être attaqués par les aflatoxines si les conditions climatiques sont favorables.

Des analyses de farines de manioc ont été menées pour s'assurer de la non susceptibilité à la contamination par les aflatoxines que présente ce type d'aliment. Le travail est ainsi intitulé « Evaluation du niveau de contamination des farines alimentaires consommées dans les provinces de Bubanza, Bujumbura et Cibitoke : étude effectuée sur 27 échantillons de farines de maïs, soja, arachide, manioc, et des farines complètes ».

## I. 7. Cadre conceptuel



# CHAPITRE II. REVUE DE LA LITTERATURE

## II.1. Généralités sur les farines

### II.1.1. Définition et types de farines

Généralement, la farine est une poudre obtenue en broyant et en moulant des céréales ou d'autres produits agricoles alimentaires solides, dans la plupart des cas, les graines. La farine issue du blé, est beaucoup consommée dans le monde. D'autres peuples encore utilisent des céréales comme le maïs pour s'alimenter et faire de la farine, par exemple au Mexique, en Afrique également. Elle est à l'origine de la fabrication des pains, des pâtes, des crêpes, des pâtisseries et de nombreux mets (Diallo et *al*., 2015).

Des farines composées sont aussi utilisées pour améliorer la qualité nutritionnelle de la farine à nourrir certains groupes de personnes par exemple les enfants, dès la période de sevrage, les malades, les femmes enceintes, ou des personnes âgées (Sika et *al*., 2019).

Les différents éléments peuvent être utilisés pour fabrique la farine composée : on peut utiliser des céréales mélangées à des légumineuses ou oléagineux ; dans d'autres cas, le maïs peut être mélangé à des extrais de fruits comme le safou (Sika et *al*., 2019).

Les tubercules sont aussi utilisés pour la fabrication des farines simples ou composées. Le manioc est un tubercule intervenant beaucoup dans la production des farines pouvant être consommées comme telle ou mélangées avec d'autres articles, en boulangerie ou fabrication de la farine infantile (Razafimahefa et *al*., 2010).

Les farines issues de la mouture des céréales et des graines oléagineuses nous préoccupent beaucoup. Ces dernières sont susceptibles d'être contaminées par les aflatoxines plus que celles issues des tubercules. Le tableau 1 résume les valeurs nutritionnelles de quelques produits à graines couramment consommés au Burundi.

**Tableau 1: Valeurs nutritives des produits à graines courantes dans l'alimentation au Burundi (Selon Bastianelli et al., 2009).**

| | **Moyennes générales** | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Type de farine** | **Matière. Sèche** | **Matière minérale** | **Matière azotée. totale** | **Matière grasse** | **Fibres** | **Amidon** | **Sucres totaux** |
| Farine de maïs (100 g) | 90,8 | 1,4 | 9,5 | 4,5 | 2,2 | 73,3 | 1,6 |
| Farine de sorgho | 87,8 | 2,9 | 9,3 | 2,9 | 2,4 | 67,6 | 2,1 |
| Farine de Blé | 91,2 | 5,6 | 16,7 | 4,3 | 9,7 | 23,2 | 6,4 |
| Farine de soja | 89,5 | 3,2775 | 35,8 | 21,4 | 10 | 22,9 | 7,5 |
| Farine d'arachide | 92,8 | 1,384 | 22,8 | 49,1 | 8,6 | 5 | 5,9 |

La farine issue des tubercules beaucoup consommées au Burundi est celle de manioc. Sa composition nutritionnelle est reprise dans le tableau 2.

**Tableau 2: Composition nutritionnelle da la farine de manioc blanche ( Diallo et al., 2015)**

| **Composante** | **Teneur (%)** |
|---|---|
| Matière sèche | 87,7 |
| Matière minérale | 1,8 |
| Protéines | 1,6 |
| Lipides | 0,7 |
| Amidon | 79,9 |
| Fibres | 4,3 |
| Sucres totaux | 2,1 |

**2. Production des farines alimentaires au Burundi**

Les farines les plus consommées au Burundi sont les farines provenant des céréales (le maïs en premier rang) et des tubercules, le manioc étant le principal tubercule qui fournit la farine.

La farine du maïs est l'élément central de l'étude, suivi des graines oléagineuses.

En effet, d'une part, la farine de maïs est non seulement la plus consommée, mais également constitue un substrat favorable aux champignons producteurs d'aflatoxines (Mugisha, 2023).

D'autres part, la technologie de production de farine de maïs présente des analogies à des technologies de production de farine de soja ; ces dernières étant susceptibles d'être contaminées par les aflatoxines (Parmentier, 1989).

**Ligne de production de la farine de maïs**

La farine de mais peut s'obtenir par concassage artisanale, mouture ordinaire et/ou concassage industrielle**.** La figure 1 détaille schématiquement les différentes étapes de la production de farine de maïs.

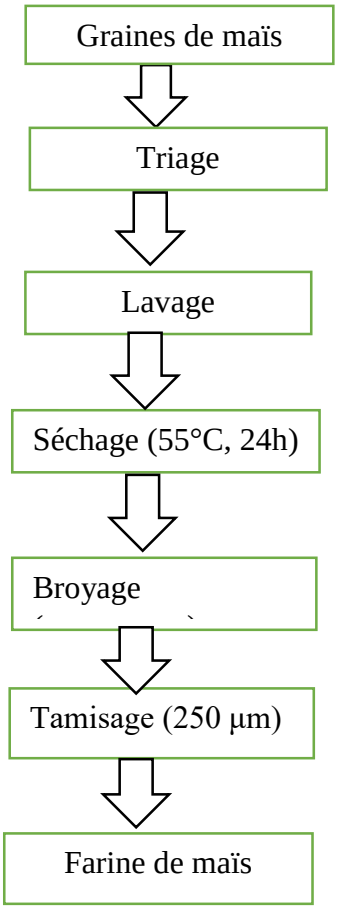



**Figure 1: Le schéma général de la production de farine de maïs (adapté de Parmentier, 1989)**

## II.2. Généralités sur les mycotoxines

### II.2.1. Définition et épidémiologie

Les mycotoxines sont définies comme des substances issues du métabolisme secondaire (majoritairement produites enfin du cycle de vie des champignons producteurs) de certains champignons et moisissures (Ali e*t al.,* 2021). Elles ne sont pas obligatoirement nécessaires à la vie des champignons et sont potentiellement toxiques sur le consommateur lorsqu'elles sont ingérées même à faibles doses (concentrations). Elles constituent donc des contaminants de plusieurs produits alimentaires et leurs dérivés tels que les céréales et les produits des plantes oléagineuses, les fruits et les produits de transformation (Mezhoud, 2023).

Malheureusement, les mycotoxines sont négligées en tant que problème de santé publique et de nombreux gouvernements africains ne consacrent pas un financement et n'accordent pas un degré de priorité suffisante à la lutte contre les mycotoxines. Pourtant des décès consécutifs à la consommation de maïs fortement contaminé ont été enregistrés depuis la fin des années 1960 et jusqu'à une époque récente en Afrique de l'Est (Chibundu, 2018).

On peut citer, par exemple, le cas de 341 personnes victimes d'une intoxication après consommation d'une farine de maïs contaminée par les aflatoxines en 2004, qui a causé 123 décès au Kenya (Obura, 2013).

Comme les *Aspergillus* et *Penicillium* ne nécessitent qu'une faible activité hydrique pour se développer, on les considère comme des champignons d'entreposage (Sidi, 2015); de ce fait, peuvent produire des aflatoxines qui détériorent les produits alimentaires après récoltes et même après transformation.

Les mycotoxines sont difficilement dégradables par des organismes vivants, résistent à des hautes températures et restent stables à des pH critiques. Peu solubles dans l'eau, les mycotoxines durent longtemps plus que les champignons qui les secrètent (Noureddine et *al,* 2016).

### II.2.2. Aspect général des champignons

#### 1°. Aspect général des champignons (mycètes)

Les champignons (mycètes) sont des organismes pouvant être unicellulaire (constituée d'une seule cellule) ou pluricellulaires se répartissant en espèces macroscopiques (macromycètes) et microscopiques (micromycètes), d'aspect filamenteux ou levuriforme. Un micromycète peut parfois se présenter sous différentes formes. Deux formes peuvent être mises en évidences: sexuée ou anamorphe et asexuée ou télémorphe. Selon le mode de reproduction sexuée, on distingue les Mastigomycotina, les Zygomycotina, les ascomycotina et les Basidiomycotina (Lahouar, 2016).

Les champignons sont ubiquitaires et se trouvent partout dans la nature. Appartenant au domaine des Eucaryotes, les champignons sont pluricellulaires, hétérotrophes, aérobies, immobiles, Gram positifs, avec des hyphes ramifiés, produisant des spores non flagellés. Les champignons possèdent une paroi cellulaire souvent constituée de chitine sans cellulose (Keltum et *al*.2017).

Selon Ayer et *al*. (1981), l'aspect de thalle nous permet de distinguer trois types dont :

- ✓ les champignons filamenteux (Aspergillus, Penicellum)
- ✓ les champignons levuriformes (Saccharomyces)
- ✓ les champignons dimorphiques (Candida)

Les champignons qui nous préoccupent beaucoup sont les champignons filamenteux, car les mycotoxines qu'ils secrètent sont nocives dans bien des cas.

#### 2°. Reproduction

Un micromycète peut parfois se présenter sous différentes formes : une forme sexuée ou téléomorphe et une forme asexuée ou anamorphe. Lorsque plusieurs aspects coexistent pour la forme asexuée, on parle de synamorphes et si l'espèce fongique existe dans la même culture sous forme sexuée et asexuée, on parle d'holomorphe. On différencie quatre divisions selon les modalités de reproduction sexuée : les Mastigomycotina, les Zygomycotina, les Ascomycotina et les Basidiomycotina. En outre, lorsque la reproduction sexuée n'est pas connue, la division est appelée Deuteromycotina ou Fungi imperfecti (Lahouar, 2016).

**3°. Taxonomie et classification**

Le règne des mycètes comprend des divisions ; ces dernières organisées en classes. Celles-ci englobent des ordres qui regroupent à leur tour des familles. L'identification des champignons est essentiellement morphologique.

Enfin de leur cycle de développement, certains de ces champignons sécrètent des mycotoxines sur les plantes et ces mycotoxines prolifèrent sur la plante affaiblie, ce qui, à la longue, induit sa destruction. C'est la contamination dans le champ (Dieme et *al*. 2016). D'autres produisent des toxines sur la récolte, altérant ainsi la qualité de la production. Ce sont les toxines de stockage. Plus de 300 mycotoxines sont déjà recensées mais quelques dizaines préoccupent les chercheurs du fait de leur toxicité élevée dont les aflatoxines pour notre cas (Galtier et *al*. 2006).

**4°. Besoins nutritionnels des mycètes**

Le pouvoir de sécrétions des toxines dépend en premier lieu des facteurs intrinsèques (liés à la souche elle-même) et des facteurs extrinsèques dont la composition qualitative et quantitative du substrat. La toxinogénèse est favorisée par des concentrations élevées en sucres et ou lipides (Milani, 2013). Par conséquent, des céréales et oléagineux plus riches en sucres et en lipides sont généralement favorables à la toxinogénèse que les substrats en forte teneur en protéines seulement (Elsaadani, 2020). Des sucres comme le glucose, le mannose, le fructose et le saccharose, favorisent la production des aflatoxines et ochratoxine A par *Aspergillus flavus*, alors que les minéraux comme le fer et le zinc en ont un effet moins considéré. L'effet du fer et du cuivre peut être dû à leur rôle de catalyseurs de la peroxydation des lipides (Rachedi et *al*, 2022)**.**

D'autres conditions environnementales comme une température comprise entre 5 et 35°C, pH de 3 à 8 avec un optimum de 5 à 6, l'activité de l'eau de 0,70 à 0,99 et la présence d'eau libre dans le substrat sont des facteurs prépondérants pour le développement des moisissures (Ruppol et *al.*, 2004) .

**5°. Champignons et mycotoxines**

Les mycotoxines sont principalement synthétisées par cinq espèces toxinogènes comme le montre le tableau 3.

**Tableau 3: Quelques toxines secrétées par les principaux genres de champignons (Gauthier, 2016)**

| **Micromycètes** | **Toxines** |
|---|---|
| *Aspergillus* | Aflatoxines, ochratoxine A, stérigmatocyne |
| *Fusarium* | Trichothécènes, zéaraléone, moniliforme |
| *Penicillum* | Citrine, patuline, pénitrem A, acide cyclopiazonique, ochratoxine A |
| *Alternaria* | Acide ténuazonique, alternariol |
| *Claviceps* | Alcaloïdes de l'ergot |

### II.2.3. Les aflatoxines

Les aflatoxines sont des mycotoxines de masse moléculaire faible, de champignons microscopiques : *Aspergillus, Penicillium, Claviceps, Fusarium* et *Alternaria.* Sécrétées enfin de cycle de vie des champignons producteurs, les aflatoxines comme tant d'autres mycotoxines, peuvent durer longtemps dans un produit donné plus que le champignon qui les produit (Lopez et al. 1999).

Parmi les cinq espèces de micromycètes, *Aspergillus flavus* est la principale espèce productrice d'aflatoxines du groupe B, alors que *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus nomius*, bien que soient rares dans les aliments, en plus des aflatoxines du groupe B, produisent des aflatoxines du groupe G. L'aflatoxine B1 et B2, de formules respectives ($C_{17}H_{12}O_6$) et ($C_{17}H_{14}O_6$), ont des masses moléculaires de 312 et 314 g/mol et ont une fluorescence de couleur bleue sous la lumière ultra violette. L'AFG1 ($C_{17}H_{12}O_7$) et l'AFG2 ($C_{17}H_{14}O_7$), de masses molaires respectives 328 et 330 g/mol, ont des fluorescences de couleur verte. L'AFB1 est la plus virile de tous ces homologues avec des propriétés immunosuppressives. Des réactivations parasitaires et la diminution de l'efficacité vaccinale ont été mises en évidences sur plusieurs espèces animales (Bourrais et *al*, 2006).

Le métabolisme de l'AFB 1 par un ruminant (vache, chèvre, mouton,…) qui l'absorbe donne lieu, par son excrétion dans le lait de ces ruminants à une autre forme d'aflatoxine $M_1$, de formule générale $C_{12}H_{12}O_7$ et de masse moléculaire de 328 g/mol, avec une fluorescence bleue mauve sous la lumière UV (Philizaire et *al.* 2017).

L'aflatoxine du type M est donc un produit de métabolisme de l'aflatoxine B1. C'est un dérivé mono-hydroxylé de l'AFB 1 produit par les cytochromes P-450 au cours du métabolisme hépatique et sécrété dans le lait (Momentum et *al*. 2016).

## II.3. Structure chimique de différentes molécules d'aflatoxines et mécanisme d'action

- **Structures chimiques**

Les aflatoxines constituent un groupe de 18 composés ayant une structure chimique proche (1 coumarine + de 3 furannes) = flavocoumarines

Selon la formule générale et sa masse moléculaire, chaque molécule d'aflatoxine a une structure chimique qui lui est propre comme le montrent les structures chimiques :

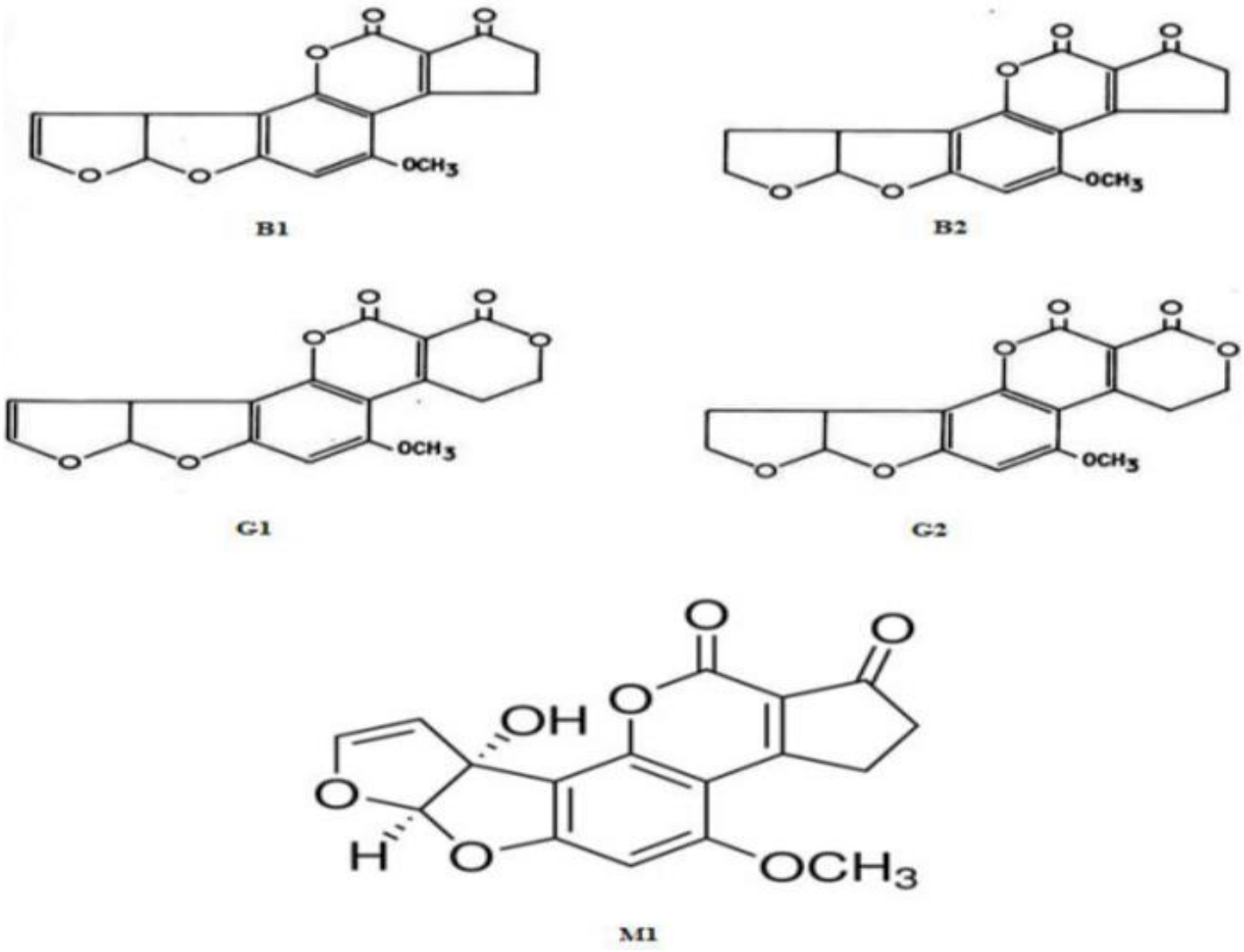



**Figure 2: Structures chimiques des différentes molécules d'aflatoxines (Lahouar, 2016)**

- **Mécanisme d'action**

Selon Mezhoud (2023), l'activation de l'AB1 par le cytochrome P-450 conduit à des réactions d'hydroxylation formant AFM1, et d'époxydation formant AFB1-8,9 qui agissent sur :

- l'ADN: l'aflatoxine B1 s'intercale au sein de l'ADN, en se fixant plus fortement dans les zones transcrite.
- les protéines : diminution de la synthèse des protéines intra- et extracellulaires
- le métabolisme glucidique : réduction du glycogène hépatique, interférence avec le métabolisme énergétique des cellules animales, inhibition de la consommation d'oxygène des tissus

- le métabolisme lipidique : accumulation de lipides dans le foie, diminution des concentrations sériques du cholestérol, des triglycérides, des phospholipides, perturbation de la synthèse et le transport des lipides, perturbation de l'absorption et la dégradation des lipides
- le système immunitaire : immunosuppresseur après ingestion ou inhalation.

**II.4. Conditions de développement des aflatoxines**

La prolifération des mycotoxines et des aflatoxines en particulier dépend des conditions favorisant la multiplication des champignons producteurs. Pour les aflatoxines, leur présence et leur multiplication sont favorisées par l'existence des micromycètes de types Aspergillus. La section d'Aspergillus comprend trois espèces pouvant produire des aflatoxines.

Ces espèces sont *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus nomius* ("espèces rares dans les produits alimentaires") (Cotty, 1997). Ce sont des espèces étroitement liées du fait des similarités qui existent entre elles et ne sont différenciées que par les toxines qu'elles produisent (Biorisk, 2023).

Les champignons du type Aspergillus se développent rapidement dans les régions tropicales et humides (température comprise entre 25-30°C) laissant des aflatoxines qui vont continuer à se développer dans les mêmes conditions. L'humidité, les précipitations et la température tiède favorisent la multiplication des aspergillus et donc la prolifération des aflatoxines (Domngang et al. 1989).

De ce fait, les aflatoxines sont donc abondantes en Afrique et en Asie (Khoury, 2017).

Au Burundi, le bulletin de recherche agronomique de l'ISABU montre que les aflatoxines existent au Burundi et surtout dans les régions de basse altitude où les conditions climatiques sont favorables au développement du champignon responsable de la production des aflatoxines (Nibasumba, 2016).

Selon le même auteur, comme il a été constaté dans les autres pays, la température, l'humidité relative et les points d'entrées créés par les insectes et d'autres ravageurs des produits alimentaires, sont les facteurs principaux favorisant la prolifération des aflatoxines dans les denrées alimentaires.

## II.5. Contamination à l'aflatoxine des farines alimentaires

Les farines sont des produits issus de la mouture des produits entiers secs : céréales, oléagineux, tubercules, plus généralement, graines et tubercules (Diom, 1978).

La contamination des produits entiers signifie la contamination accentuée de la farine dérivée et la contamination à l'aflatoxine est parallèle à la multiplication du mycélium. Les farines constituent un milieu idéal pour la prolifération d'aflatoxine car les besoins en nutriment des aflatoxines sont rendus très disponibles par la mouture (Macauley et al, 2015).

Comme présentés par Schroeder, (1969), les facteurs de contamination sont entre autres

- pratiques agricoles : plusieurs cultures simultanées sur un champ de culture
- des températures élevées : échauffement du sol avant la maturité des cultures
- techniques de récolte et de transport non adéquats
- des conditions de stockages non adaptées (température comprise entre 25°C et 35°C, humidité relative d'environ 80 %)
- nature de produit : riche en glucides, protéines et/ou lipides
- pH : compris entre 4 et 6.

## II.6. Effets des aflatoxines sur la santé

Les aflatoxines ont des effets néfastes sur la santé et le problème de santé vient d'une part, de la consommation des doses élevées d'aflatoxines induisant des maladies brusques et mortelles, d'autre part, de la consommation répétée de faibles quantités d'aflatoxines engendrant des intoxications chroniques (Allogni et *al*. 2010). Les effets sont entre autres :

### 1°. Cancer et maladies transmissibles

Les aflatoxines sont des contaminants redoutables des aliments qui causent des dommages de la santé, des nécroses aux cancers. Ces mycotoxines sont connues pour leur grande toxicité et leurs effets mutagéniques, tératogénies et carcinogéniques. Les aflatoxines sont à l'origine du cancer du foie, pour les hommes et les animaux exposées à des concentrations excessives couplé à un carcinome hépatocellulaire.

L'incidence du cancer du foie varie beaucoup dans les pays en voie de développement (Asie et Afrique Sub-saharienne) et se révèle toujours plus élevée (Bourais et *al*, 2006)

En plus du cancer du foie, les aflatoxines peuvent donner lieu à une symptomatologie aiguë, pouvant provoquer la mort suite à une exposition à des fortes doses. L'exposition chronique à faible dose est le danger le plus douteux (Gauthier, 2016). Les symptômes de la toxicité varient selon l'espèce de mycotoxine concernée et les troubles vont de la pneumopathie, passant par la nephro-, la neuro et finalement à l'hépatotoxicose. D'autres maladies comme la zoonose sont aussi transmises. Certaines mycotoxines, incluant les aflatoxines ont des effets immunodépressif accentué. Les effets sont intensifiés en cas de malnutrition et de l'affaiblissement du sujet (Ruppol et *al*. 2004)

**2°. Maladies du tube digestif**

L'intoxication des aliments aux aflatoxines conduit à des symptômes tels que diarrhée, vomissements, nausée, douleurs abdominales, origine de mauvaise absorption des nutriments au niveau de veine porte, donc la mauvaise utilisation des nutriments par l'organisme. En absence de traitement, des complications (de l'anémie à la malnutrition) peuvent en découler (Hell et *al*, 2011).

**II.7. Effets des aflatoxines sur l'économie**

La contamination à l'aflatoxine est un problème majeur au développement. Cela est expliqué par la diminution de la population active due à une mortalité infantile élevée et la faiblesse excessive des sujets atteints par des maladies causées par les l'intoxication aux aflatoxines.

Dans les pays en voie de développement, et en Haïti, 40% de la production de maïs sont affectées par les aflatoxines à des concentrations dépassant 4 mg/kg recommandées par la norme de l'union européenne. Les pays ne peuvent donc pas vendre leurs productions, des pertes financières deviennent ainsi alarmant dans les pays en voie développent dont l'économie repose sur l'exportation des produits agricoles. Les famines s'accentuent dans les ménages qui ne peuvent plus se procurer des aliments dans les pays capables d'interdire à la population la consommation des produits non conformes (Philizaire et *al.* 2017).

### II.8. Effets des aflatoxines sur la sécurité alimentaire

Les aflatoxines, en plus des effets directs sur la santé des consommateurs et le dérèglement des économies, induisent des conséquences néfastes sur la sécurité alimentaire par perturbation de la disponibilité et la stabilité des aliments. En effet, des quantités considérables des denrées alimentaires (arachide en Haiti), sont perdues, réduisant la disponibilité des protéines et lipides car l'arachide constitue une source fiable de ces deux macronutriments (Ongoma, 2013).

Au Kenya, en 2004, une réduction importante de sources de glucides a été provoquée par l'expulsion des tonnages de maïs après le décès de plus de 300 personnes par la consommation du maïs contaminé (Daniel et *al*. 2011). Toutefois, la consommation des produits contaminés à l'aflatoxine est beaucoup liée à l'ignorance des producteurs en matière de ces mycotoxines, de ce fait, des carences en certains minéraux et acides gras disponibles dans les produits oléagineux sont observés, bien que la population cible se procure des aliments contenant ces nutriments, mais contaminés (Guedon et *al*., 2007).

### II.9. Réglementation sur les aflatoxines

La norme réglementaire sur les quantités maximales admissibles en aflatoxines varie d'un pays à l'autre, d'un produit alimentaire concerné et du type d'aflatoxine. Dans certains pays en développement comme le Maroc, il n'existe toujours pas de normes concernant les limites des aflatoxines dans les aliments mais un projet de normes est en cours de réalisation par le service de normalisation industrielle marocaine (SNIMA) (Zinedine et al., 2009).

Au niveau européen, la Commission Européenne a limité la teneur en aflatoxines totales (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2) à 4 µg/Kg, l'AFB1 seule à 2 µg/Kg dans les noix, les fruits secs, les céréales prêtes à la vente, et l'AFM1 à 0.05 µg/Kg dans le lait. Pour les produits qui doivent subir un procédé industriel, la limite légale correspond à 8 µg/Kg et à 15 µg/Kg respectivement d'AFB1 et des aflatoxines totales. La limite maximale en AFB1 et AFM1 est limitée à (50 ng/L), du fait de leur pouvoir cancérigène puissant pour les bébés (Dimanche, 2001).

Aux Etats Unis d'Amérique, les teneurs admissibles sont 5 fois plus grandes que celles établies en Europe, soit de 5 à 20 µg/Kg. L'organisation mondiale de la santé, à travers le Codex Alimentarius, fixe les limites acceptables de 5 µg/Kg en AFB1 et 15 µg/Kg en aflatoxines totales (Unique, 2016).

Les limites maximales très strictes établies par l'Union Européenne s'expliquent par le fait que le cancer du foie est étroitement lié à la consommation des aliments contaminés en aflatoxine (Blanc, 2001).

Au Burundi comme dans tous les pays de l'Afrique de l'Est, les limites maximales en aflatoxines totales et en AFB1 sont fixées à 10 ppb (µg/Kg) dans les céréales et autres graines (Awulachew, 2020).

Les pays développés ont un comportement de fixer les limites maximales très strictes plus que le Codex Alimentaires ; cela crée un impact négatif sur les échanges commerciaux et les économies des pays en voie de développement. Il faut noter aussi que les limites admissibles sont plus élevés pour les produits destinés à la transformation et sont revues à la baisse pour les produits à consommation direct (Seujib, 2022).

## II.10. Prévention des aflatoxines dans les produits alimentaires

Pour prévenir la contamination aux aflatoxines des produits alimentaires, le contrôle de l'humidité, la température et le pH doit être de rigueur. La réduction des aflatoxines dans les graines oléagineuses contribue aussi au contrôle de la qualité des produits dérivés.
Le stockage doit être fonction de certaines exigences: activité de l'eau < 0,7, température ne dépassant pas $10^0$C,
l'humidité inférieure à 70 %, et le pH < 5. Ces conditions handicapent la croissance des moisissures et ainsi l'absence ou la réduction des aflatoxines (Codex Alimentarius Commission, 2006).

## II.11. Traitement des produits alimentaires contaminés par les aflatoxines

Différentes méthodes peuvent être utilisées pour le traitement des produits alimentaires contaminés à l'aflatoxine. Selon Guerre (2000), ces méthodes sont surtout :

- **Méthodes physiques**

### a) Nettoyage

Un tri manuel et/ou électronique, la flottaison et la ségrégation permettent de réduire de 90 à 95% la contamination de la farine des maïs ou autres graines contaminées à l'aflatoxine.

**b) Broyage, trempage et séparation**

Pour le maïs, le broyage fin permet de séparer différentes fractions dont le taux de contamination en toxines est variable. Au cours d'un broyage humide, l'aflatoxine B1 (AFB1) se retrouve principalement dans l'eau de trempage du maïs (39 à 42 %) et dans la fibre (30 à 38 %), le reste est réparti dans le gluten (13-17 %), le germe (6-10 %) et l'amidon (l %).

Plus généralement, selon le même auteur, l'élimination des fractions altérées des aflatoxines peut se faire suivant les méthodes résumées dans le tableau 4.

**Tableau 4: Méthode d'élimination des aflatoxines (fragments)**

| Méthode | Aliment |
|---|---|
| Tri manuel/électronique | arachide |
| Flottaison et séparation | Arachide, maïs |
| Broyage humide | maïs |
| Broyage à sec | maïs |
| Chaleur humide | Tous les aliments |

- **Méthodes chimiques**

Des techniques de dénaturation chimique sont également utilisées : l'usage de la neutralisation acide-base (ammoniation, nixtamalisation, usage de l'eau oxygénée, utilisation de bisulfites) (Hell et al, 2011).

Quant à Khaddor (2003), les bactéries mésophiles, ajoutées au lait fermenté comme yaourt, à 5µg de bactéries/l de lait fermenté, peuvent éliminer totalement l'aflatoxine M1 par effet de la nisine caractéristique des souches lactiques mésophiles, l'usage des agents adsorbants comme argile s'avère aussi efficace .

- **Des traitements courants**

La lyophilisation, la réfrigération, stérilisation et l'irradiation peuvent aussi être appliquées pour la réduction des aflatoxines dans les denrées alimentaires (Domngang et al., 1989).

En conclusion, les aflatoxines sont des toxines produites par des moisissures filamenteuses (mycètes) comme *Aspergillus favus* et *Aspergillus parasiticus*.

Très abondantes dans les régions tropicales, elles sont produites enfin de la phase de développement des mycètes producteurs et persistent sur le substrat (produits alimentaire riche en glucide et/ou en lipide) avec des effets néfastes sur la santé des consommateurs des produits contaminés. De part leur mécanisme d'action, elles sont beaucoup néfastes pour la santé des consommateurs pour divers niveaux de l'organisme.

La connaissance du niveau de contamination et des techniques applicables pour l'élimination des aflatoxines dans les produits contaminés sont des moyens alternatifs pour la prévention et la réduction de la contamination des denrées alimentaires telles que les différentes farines alimentaires.

# CHAPITRE III: MATERIELS ET METHODES

## III.1. Lieu d'étude

Selon Sabushimike (2017), le Burundi est un pays situé à cheval entre l'Afrique de l'Est et l'Afrique Centrale. Il est frontalier au nord avec le Rwanda, au Sud et à l'Est avec la Tanzanie et à l'Ouest avec la République Démocratique du Congo (RDC).

Selon Ntibwunguka (2019), le Burundi est sous l'influence d'un climat équatorial, hauts plateaux avec des différences d'altitude (de 772 à 2 684 mètres) avec la température annuelle comprise entre 17 à 26°C et les précipitations annuelles sont de 1 500 mm en moyenne.

Les provinces de Bubanza, Bujumbura et Cibitoke (qui constituent la zone d'étude) se situent dans la partie Ouest du pays et ces provinces ont en commun le relief. Comme le montre la figure 5, ce relief est constitué des plaines, Mirwa et chaîne de montagnes.

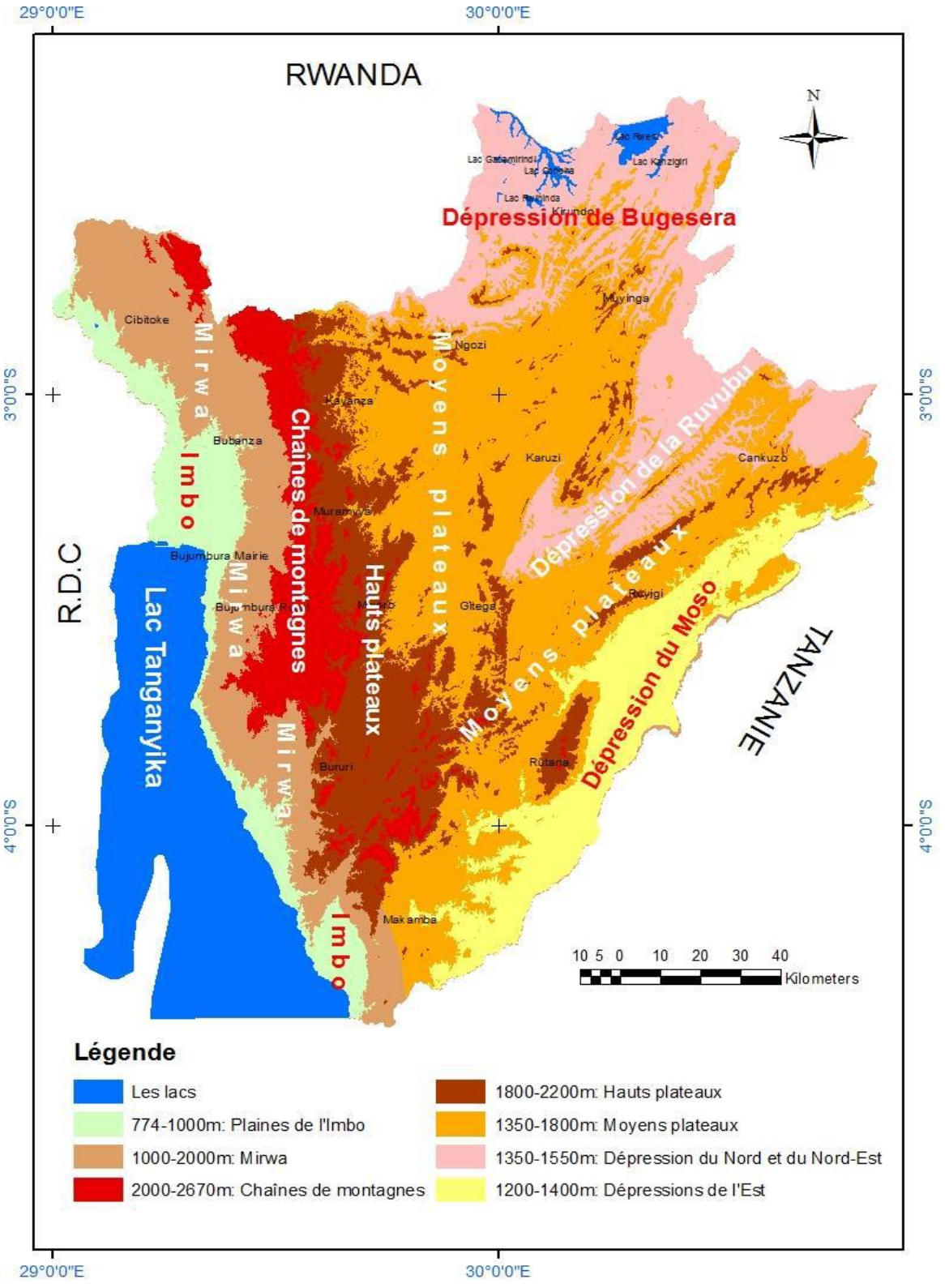



**Figure 3: Carte géographique du Burundi**

**Caractéristiques climatiques du relief de la zone d'étude et marchés concernés :**

- ✓ partie proche du lac Tanganyika correspondant à la plaine de l'Imbo :

- 774 à 1000 m d'altitude,
- Température moyenne de plus de 25°C-30°C
- Précipitations moyenne768.3 à 900 mm par an
- Humidité relative moyenne de 70-80 %

Ici, nous avons pris les échantillons aux marchés de chez Sion, marché de Gihanaga et Marché de Cibitoke

- ✓ les Mirwa

- (1000 à2000m d'altitude
- Température moyenne de 15-25°C
- Précipitations moyennes de 1059.7.6 à 1252.4 mm;
- Humidité relative moyenne : plus de 80%

Nous avons acheté les échantillons aux Marché central de Bubanza, marché de Mucungwe ainsi que le marché de la commune Mugina.

- ✓ les chaines de montagnes

- (2000 à 2670 m d'altitude).
- Température moyenne de 13ºC à 22.1ºC.
- Précipitation moyenne 1200 à 1600mm.
- Humidité relative moyenne : plus de 90%

L'achat des échantillons a été fait aux marchés Mabayi, marché de Ntamba, et le marché de Jenda. L'étude a été effectuée dans ces régions pour se rendre compte du niveau de contamination des farines alimentaires par les aflatoxines issues des unités de transformation et des centres commerciaux de ces localités.

**III.2. Type d'étude**

La détection des aflatoxines dans les farines alimentaires en provenance de la région Ouest du Burundi a été réalisée par une méthode analytique par HPLC couplée à de la fluorescence et des techniques immunologiques.

### III.3. Population cible

Les échantillons analysés ont été pris dans la région Ouest du Burundi constituée de 3 provinces Bubanza, Bujumbura et Cibitoke. Les échantillons ont été achetés chez les vendeurs et les usines de transformation des farines alimentaires.

### III.4. Techniques d'échantillonnage

Notre étude porte sur l'achat des farines alimentaires consommées au Burundi en général, plus particulièrement dans la région Ouest du Burundi, constituée par trois provinces (Bubanza, Bujumbura et Cibitoke). Ainsi, nous avons procédé à l'analyse de 27 échantillons constitués de farine de maïs ordinaire et/ou décortiqué, farine d'arachide cru, farine de manioc fermenté et/ou non fermenté, farine de soja cru, farine de bouillie complète (composée), farine de bouillie à base de soja.

### III.5. Critères d'échantillonnage

Les échantillons devraient être des farines présentes et consommées dans les régions Ouest du Burundi.

#### III.5.1. Critères d'inclusion

Les différentes farines ont été achetées aux marchés des trois provinces en fonction des zones climatiques et selon que le vendeur possède le stock et le matériel d'entreposage (palettes). Ces farines ont été choisies en raison de leur forte consommation et de leur sensibilité à l'attaque par les moisissures (mycètes).

#### III.5.2. Critères d'exclusion

Les vendeurs ne possédant pas de stock et des palettes ne sont pas concernés par l'échantillonnage.

### III. 6. Considération éthique

Avant de demander l'échantillon, nous avons d'abord organisé des échanges avec les vendeurs des farines concernées à propos des aflatoxines. Comme tous les vendeurs et entrepreneurs chez qui

nous avons pris les échantillons ne savaient rien à propos des aflatoxines, nous leur avons parlé des généralités sur ce genre de mycotoxines et des mesures de leur prévention dans la mesure du possible. Cela montre que la majorité de la population n'est pas au courant des aflatoxines. L'échantillonnage consiste en l'achat des farines à raison d'1 kg pour chaque type de farine.
Les farines achetées ont été conservées dans des sacs en polyprène et analysées dans les meilleurs délais au laboratoire de Centre National de Technologie Alimentaire (CNTA).

### III. 7. Les échantillons analysés

En moyenne, 3 échantillons pour chaque type de farines ont été analysés et au totat, 27 échantillons ont été analysés. Ces dernières sont :

i. Farine de maïs ordinaire : non décortiqué
ii. Farine de maïs décortiquée : issue d'un procédé technologique
iii. Farine d'arachide
iv. Farine de soja traité pour bouillie
v. Farine de soja cru (utilisée pour la production artisanale des tofus)
vi. Farine de manioc fermenté (inyange)
vii. Farine de manioc non fermenté (akambaranga)
viii. Farine de blé
ix. Farine de bouillie complète

### III. 8. Méthodes d'analyse des données

Les données ont été analyses par différentes techniques de comparaison et de vérification de validité des données. Ce sont surtout les logiciels comme Excel, SPSS**.**

### III.9. Les échantillons analysés

Les échantillons analysés sont présentés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 5. Type de farine selon leur nature et les zones climatiques d'échantillonnage**

| Type de farine | Nature | Plaine | Mirwa | Région montagneuse |
|---|---|---|---|---|
| 1. Farine de maïs ordinaire | Céréales | 1 | 1 | 1 |
| 2. Farine de maïs décortiqué | Céréales | 1 | 1 | 1 |
| 3. Farine de bouillie complète | Céréales + Oléagineuse | 1 | 1 | 1 |
| 4. Farine de bouillie à base de soja | Oléagineuse | 1 | 1 | 1 |
| 5. Farine de manioc fermenté | Tubercule | 1 | 1 | 1 |
| 6. Farine de manioc non fermenté | Tubercule | 1 | 1 | 1 |
| 7. Farine de blé | Céréales | 1 | 1 | 1 |
| 8. Farine d'arachides crues | Oléagineuse | 1 | 1 | 1 |
| 9. Farine de soja cru | Oléagineuse | 1 | 1 | 1 |
| Total | | 9 | 9 | 9 |

### III.9.1. Matériels de laboratoires utilisés

Le matériel de laboratoire utilisé est composé de :

- Micropipettes de 10-100 µl, 100-1000 µl, 1-5 ml et pointes adaptées.
- Embouts servant de prélèvement
- Fioles volumétriques de 5, 50 et 100 ml.
- Balance analytique (Sartorius, précision de 0,001 g minimum.
- Centrifuge pour tubes de 50 ml et tubes de 50 ml (extraction for agitation manuelle et centrifugation).
- Cylindres gradués de 10, 25, 50, 100 ml et 250 ml.
- Colonnes immunoaffinité (AflaCLEAN de LC Tech, AflaStar de Rome ou similaire).
- Système d'extraction sous vide (« vacuum manifold ») et pompe à vide.
- Adaptateurs et réservoirs de 10 ou 20 ml (corps de seringues).
- Flacon HPLC de 1.8-2 ml.
- Système HPLC avec colonne Pickering MYCOTOX (ou C18 similaire), appareil de dérivation Pickering UVE et détecteur à fluorescence.

### III.9.2. Produits et réactifs utilisés

Les produits chimiques et réactifs utilisés sont :

- Eau de qualité eau distillée.
- Méthanol de qualité analyse (AR grade).
- Eau de qualité HPLC.
- Méthanol de qualité HPLC.
- Acétonitrile de qualité HPLC.
- Solution d'extraction 80% Méthanol / 20% Eau

### III.9.3. Appareillage

Les appareils utilisés sont:

- Centrifugeuse pour faciliter la dissolution des aflatoxines dans la phase liquide.
- HPLC avec colonne Pickering MYCOTOX pour analyse qualitative et quantitative des aflatoxine.

### III.9.4. Méthode d'analyse au laboratoire

La méthode utilisée est celle validée par l'Union Européenne (98/53/CE), ajustée par l'EAC (ES 665: 2017 ) et adapté par le laboratoire de CNTA. Les analyses consistent en une analyse qualitative et quantitative des aflatoxines de chaque type (AFB1, AFB2, AG1, AG2). Comme il s'agit des produits d'origine végétale, les aftotoxines du type M n'ont pas été analysées.

L'analyse consiste en l'utilisation d'un appareillage à chromatographie liquide à haute performance. La méthode exige le recours à un étalon externe permettant de calculer la teneur (en termes de concentration ou de pourcentage massique) d'un ou plusieurs constituants apparaissant séparés sur le chromatogramme même en présence d'autres composés donnant des pics non résolus.

Le procédé repose sur la comparaison de deux chromatogrammes obtenus successivement sans changer les conditions opératoires de l'appareil.

Le premier est un chromatogramme de référence acquis à partir d'une solution de référence ou standard (*C*réf) dans un solvant, et le second est un chromatogramme du composé qui fait l'objet du dosage.

### III.9.5. Principe

L'échantillon à analyser est extrait avec un mélange (eau 20 % et de méthanol 80 %). Le mélange filtré, dilué et purifié est introduit dans la phase mobile (éluant). La solution est ensuite injectée dans un tube appelé colonne chromatographique. Les molécules à séparer, sont entrainées par la phase mobile sous haute pression et interagissent avec la phase stationnaire en fonction de leur nature. Les composés en solution se répartissent suivant leur affinité entre la phase stationnaire et la phase mobile.

### III.9.6. Préparation des solutions à utiliser

Avant l'analyse proprement dite, nous avons d'abord procédé à la préparation des solutions nécessaires à la manipulation. Ces dernières sont :

- ✓ Solvant d'extraction : composé de 80 % de méthanol et 20 % d'eau distillée ; ce solvant est préparé dans un flacon d'un litre pour de nombreux échantillons et peut être gardé pendant trois mois
- ✓ Solvant servant de stabilité des aflatoxines avant la filtration sur colonne PBS (phosphate buffer saline) : ajouter 0,20 g de chlorure de potassium, 0,20 g de dihydorogénophosphate de potassium, 1,16 g de hydrogénophosphate de sodium anhydre, et 8,00 g de chlorure de sodium dans 900 ml d'eau distillée.

Après dissolution, ajuster le pH à 7,4 (avec 0,1 M HCl ou 0,1 M de NaOH selon le cas). Compléter la solution jusqu'à 1,0 L avec de l'eau distillée.

- ✓ Phase mobile : ajouter dans une bouteille en verre de 1 L propre, 560 ml (250 + 250 + 60) d'eau (qualité HPLC), 220 ml de d'acétonitrile (qualité HPLC) et 220 ml de méthanol (qualité HPLC).
- ✓ Passer au bain sonique pendant 5 minutes (jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de bulles).
- ✓ Filtrer à travers une membrane de 0,2 µm.

### III.9.7. Préparation des standards

Les standards sont des solutions contenants des aflatoxines à des concentrations connues dont les résultats après une analyse donnée servent à interpréter les résultats des échantillons analysés dans les mêmes conditions.

Nous avons préparé les standards à partir de la solution mère de 1000 ppb:

- ✓ Biopure
- ✓ Mix aflatoxin
- ✓ Lot: 1000020654 ; Exp : 01/3/2025




**Figure 4: Solution mère d'aflatoxine utilisée au CNTA**

La préparation se fait par les lois de dilution et commence par la dilution de la solution mère, de 1000 ppb à 100 ppb selon la loi de la dilution : $C_1V_1 = C_2V_2$ (avec $C_1$ : concentration en aflatatoxines de la solution mère ; $V_1$ : volume de la solution mère ; $C_2$ : Concentration en aflatoxines de la solution standard préparée ; $V_2$ : Volume de la solution standard préparée).

Nous avons donc prélevé 100 µl de la solution mère (biopure) pour une solution finale 1000 µl de la solution mère diluée. De cette concentration, on prépare des dilutions des solutions de calibrage de 1, 5, 10 et 20 ppb selon la même loi de la dilution.

Pour ce faire, avec la solution-mère diluée à 100 ppb, nous avons préparé des solutions de calibrages de volume de 1 ml comme le montre le tableau 7:

**Tableau 6 : Préparations des standards**

| Niveau | Volume solution mère (en µl) | Concentration Aflatoxine solution mère (ppb) | Volume final (ml) | Concentration aflatoxine B1 (ppb) standard |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 10 | 100 | 1 ml | 1 |
| 2 | 50 | 100 | 1 ml | 5 |
| 3 | 100 | 100 | 1 ml | 10 |
| 4 | 200 | 100 | 1 ml | 20 |

Tous les volumes sont ajustés à l'aide du méthanol pure de qualité HPLC

### III.9.8. Mode opératoire

Pour l'analyse proprement dite des aflatoxines, nous avons suivi la méthode d'analyse AOAC 991.31 & AOAC 2000.03 comportant la détermination simultanée des aflatoxines totales, aflatoxine B1, aflatoxine B2, aflatoxine G1, aflatoxine G2 et ochratoxine A (OTA) dans les aliments à base des céréales par RP-HPLC couplé à un détecteur de fluorescence UV. Ajustée par le laboratoire de CNTA, cette méthode s'applique selon les étapes suivantes :

#### 1°. Préparation des échantillons

Comme il s'agit des farines, la préparation consiste à l'homogénéisation des échantillons

#### 2°. Extraction

Avec une balance analytique de précision de type Sartorius, ayant une limite maximale de 610 g et allant jusqu'à trois chiffres après la virgule ; nous avons procédé à :

- Peser 5,0 g ± 0,001 g de chaque type de farine dans un tube à centrifuger de 50 ml.
- Enregistrer le poids de l'échantillon prélevé.



**Figure 5: Photographie d'une balance analytique utilisée pour peser les échantillons**

- À l'aide d'un cylindre gradué de 25 ml, ajouter 25 ml de la solution d'extraction 80% Méthanol / 20% Eau (dans un cylindre de 25 ml, ajouter 20 ml de méthanol AR, puis compléter à 25 ml avec de l'eau distillée).



**Figure 6: Photocopie de cylindre de centrifugation et extraction des aflatoxines des échantillons**

- **Agitation**

L'agitation est une opération qui consiste à mélange d'une manière homogène la phase liquide et la phase solide. Elle permet l'extraction des substances solubles de la phase solide cers la phase liquide. Nous avons agité d'abord oà la main, puis à l'usage d'un agitateur vortex pendant 5 minutes



**Figure 7: Photographie d'un agitateur électrique utilisé**

- **Centrifugation**

La centrifugation consiste à séparer correctement la phase solide de la phase liquide d'une solution donnée, ce qui permet d'obtenir une phase liquide sans molécules en suspension à Pour notre cas, la centrifugation s'effectue à5000 tour par minutes pendant 5 min.




**Figure 8: Photographie de la centrifugeuse utilisée au cours du présent travail**

- S**tabilisation**

Après agitation, dans un cylindre de 100 ml, ajouter exactement 14 ml de l'extrait (avec micropipette de 1 – 5 ml, 5 + 5 + 4 ml). Compléter exactement jusqu'à 100 ml avec la solution tampon PBS pour maintenir les aflatoxines stables dans un milieu tampon.

**3°. Purification**

La purification se fait à l'aide des colonnes spécifiques : Purification de l'extrait avec colonne immunoaffinité :

- Mesurer précisément 50 ml de l'extrait tamponné dans une fiole de 50 ml ou un cylindre de 50 ml.
- Préparer la cuve d'extraction à vide, la pompe à vide et la trappe intermédiaire. Ouvrir la bague de control du vide de la cuve pour ne pas avoir de vide dans la cuve à ce stade.
- Placer la colonne immunoaffinité sur le haut de la cuve et ajouter un adaptateur et un réservoir (corps de seringue de 10 ou 20 ml).
- Maintenir le haut de la cuve est bien hermétique (le bord en verre doit toucher le joint). Remplir le réservoir avec environ 10 à 20 ml d'extrait tamponné. Allumer la pompe et régler la pompe, la bague de control et les ouvertures sur le haut de la cuve afin que l'extrait passe à travers la colonne à 2 ml/min maximum.
- Ajuster la force du vide si nécessaire tout au long de la filtration afin que la filtration ne dure pas plus de 30-45 minutes.



**Figure 9: Purification par les colonnes d'immuno-affinitiné**

- Dès que les 50 ml de l'extrait tamponné sont filtrés et avant que la colonne ne s'assèche, ajouter environ 10 ml d'eau distillée dans le réservoir en 2 fois (environ 5 + 5 ml, 10 ml mesurer à l'aide d'un cylindre gradué de 10 ml).

Laisser passer toute l'eau à travers la colonne et laisser la colonne s'assécher quelques minutes. Sécher les parois internes de la colonne délicatement avec un papier absorbant pour enlever toutes traces d'eau.

**4°. Purification-élution**

Cette étape consiste à entrainer les aflatoxines retenues par les colonnes dans une fiole obscure, pour enfin les séparer par HPLC :

- Placer la colonne d'immunoaffinité dans une fiole ambrée de 5 ml.
- À l'aide d'une micropipette de 100 - 1000 µl, ajouter 0,5 ml de méthanol dans la colonne et laisser agir sur le gel pendant quelques secondes ou minutes
- Quand le méthanol émerge du bas de la colonne, ajouter encore 0,5 ml de méthanol. Continuer à éluer la colonne avec le méthanol jusqu'à ce que 2,5 ml ait été ajouté.

Seulement si nécessaire, utiliser une seringue d'air pour exercer une faible pression sur le haut de la colonne d'immunoaffinité pour assister l'élution.

- Compléter l'extrait final dans la fiole jaugée de 5 ml avec du méthanol (qualité HPLC).
- L'extrait final peut être conservé au réfrigérateur (4°C) dans l'obscurité pendant quelques jours.



**Figure 10: Photographie de la purification-élution**

**5°. Analyse HPLC**

**5°. 1. Définition de HPLC et principe de fonctionnement de l'appareil HPLC**

La chromatographie liquide à haute performance (CLHP ou HPLC en anglais, *high performance liquid chromatography*) ou simplement la chromatographie en phase liquide (CPL) ou *''liquid chromatography (LC)''*est une technique séparative utilisée en analyse quantitative et qualitative, et principalement employée dans le domaine de la chimie analytique comme outil scientifique majeur mais aussi dans des domaines variés tels que la toxicologie, la biochimie et la phytochimie La HPLC s'appuie sur l'utilisation de pompes qui font circuler sous pression un solvant liquide (phase mobile) contenant l'échantillon à travers une colonne remplie d'un matériau solide adsorbant(également appelé phase stationnaire). Chaque composant de l'échantillon interagit de manière différente avec l'adsorbant. Le débit varie avec les composant(temps de retention) , d'où leur séparation à la sortie de la colonne (Guiochon, 2007).

- **Temps de rétention** : C'est le temps mis par un soluté pour traverser la colonne
- **Phase stationnaire** : matériau solide à travers lequel un soluté, entraîné par la phase mobile, passe le long de la colonne.
- **Phase mobile** : Un liquide dans lequel sont dissouts des solutés à analyser et qui passent travers la colonne

La photographie de l'appareillage de HPLC utilisé lors de ce travail est reprise sur la figure 11.

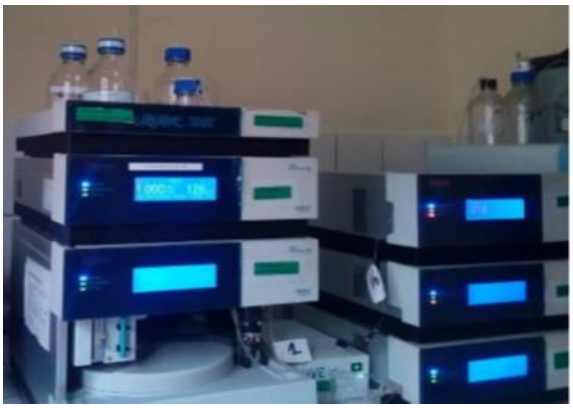


**Figure 11: Photographie de l'appareillage de HPLC du CNTA**

**5°. 2. Principe de la chromatographie HPLC et de la détection par fluorescence**

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique.

Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic.

Dans notre cas, le système HPLC était de marque Pickering. Il consiste en une pompe Pickeringe de 40MPa, un injecteur automatique et un détecteur à fluorescence de marque Pickering sensivity1 La colonne de séparation est en phase normale Mycotox ou C18. La phase mobile est constituée d'eau, acétonitrile et méthanol(56 : 22 : 22) de mode isocratique à un débit de 1mlml/minute et la durée d'une analyse est de16minutes. Le volume injecté pour chaque analyse est de 10 µl. Pendant l'analyse, la colonne est maintenue à une température de 40°C et une détection à fluorescence est réalisée à 365 nm – 430 nm.

Lors de l'analyse, nous avons suivi la séquence telle que le montre le tableau 7.

**Tableau 7: Séquence des activités pendant l'analyse HPLC**

| |
|---|
| Solvant/blanc (Méthanol) |
| Niveau standard 1 (1 ppb) |
| Niveau standard 2 (5 ppb) |
| Niveau standard 3 (10 ppb) |
| Niveau standard 4 (20 ppb) |
| Échantillon 1 – duplicata 1 |
| Échantillon 1 – duplicata 2 |
| Échantillon 1 – duplicata 3 |
| Échantillon 2 – duplicata 1 |
| Échantillon 2– duplicata 2 |
| Échantillon 2 – duplicata 3 |
| Niveau standard 1 (5 ppb) |
| … |
| 6 injections d'échantillon maximum |
| ... |
| Niveau standard 2 (10 ppb) |
| … |
| 6 injections d'échantillon maximum |

En général, l'organigramme du mode opératoire est montré par la figure 12.

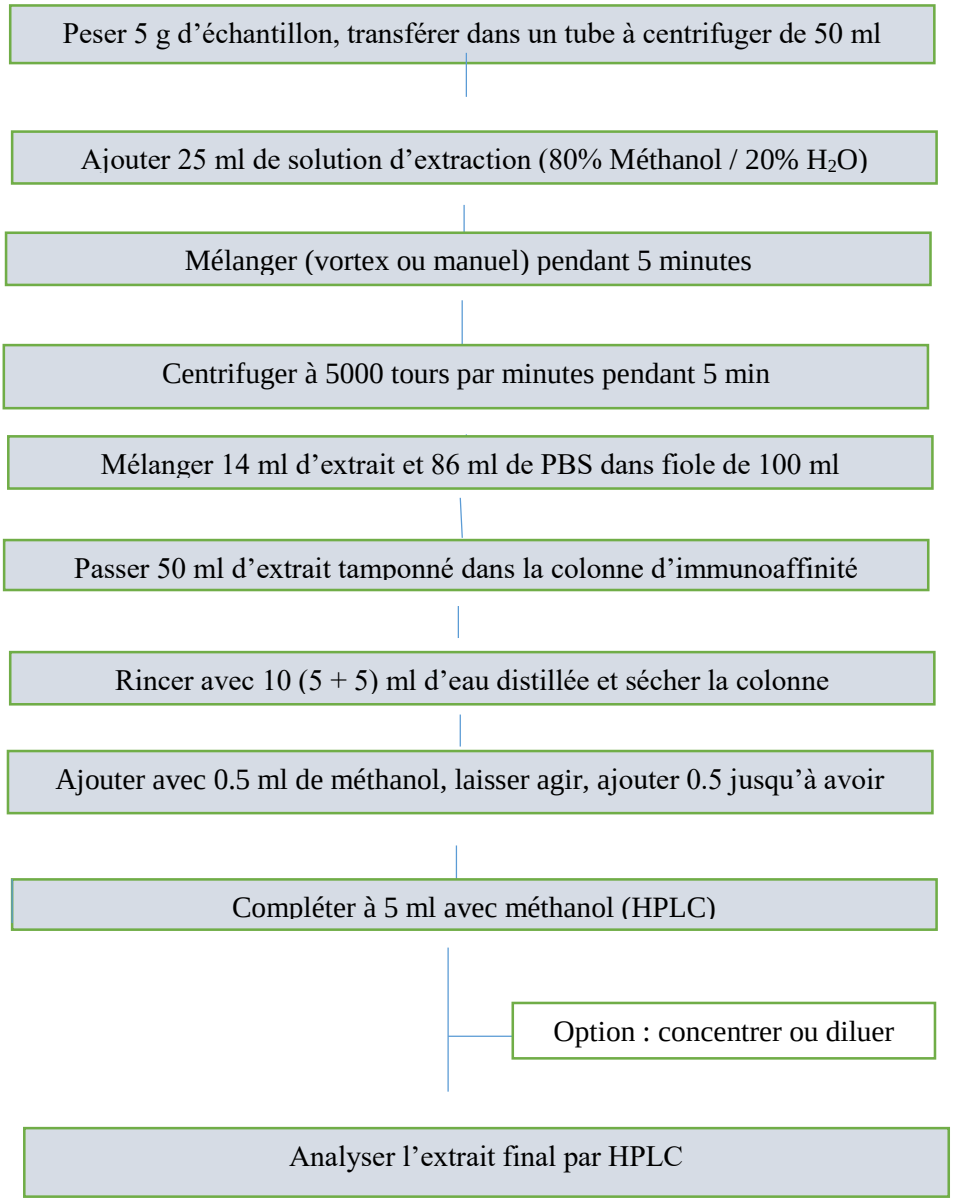



**Figure 12: Séquence des activités pendant l'analyse HPLC**

# CHAPITRE IV. PRESENTATION DES RESULTATS ET DISCUSSION

## IV.1. Présentation des résultats

### IV.1.1. Présentation des résultats à la sortie du chromatographe

Les résultats sortent généralement du chromatographe sous forme de chromatogramme et la mesure de la surface sous le pic permet de déterminer la concentration en aflatoxines et chaque type d'aflatoxine est caractérisé par son temps de rétention. Aujourd'hui, avec l'évolution de la technologie, tous les calculs se font à l'intérieur du chromatographe, et une fiche contenant toutes les informations y compris les concentrations suivent le chromatogramme. Un exemple de chromatogramme est donné par la figure 13.

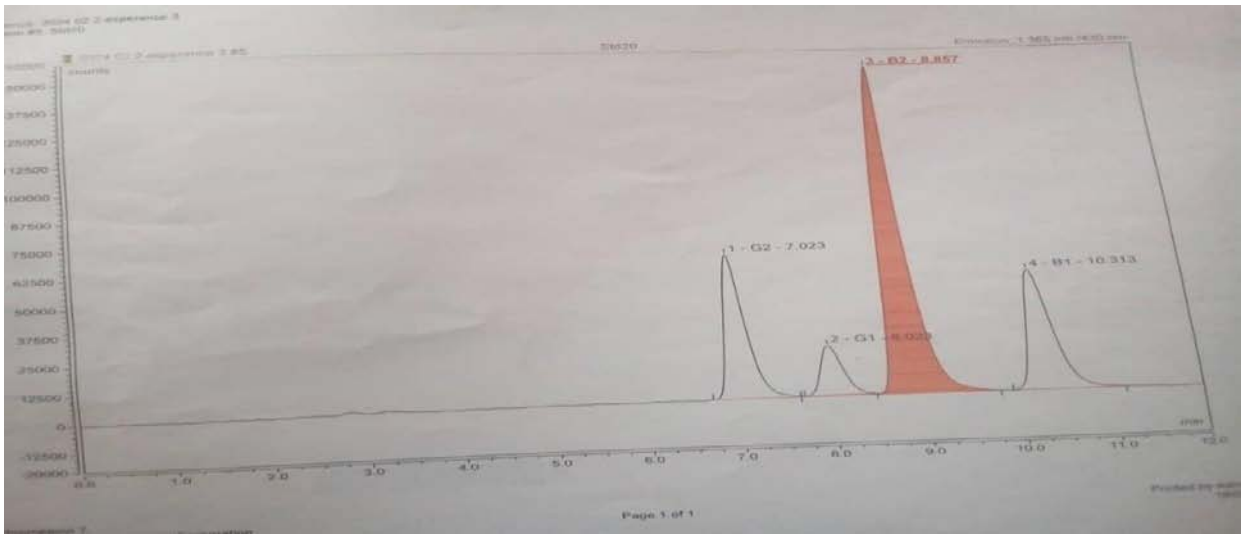



**Figure 13: Exemple de chromatogramme de solution standard d'aflatoxines à 20 ppb**

Ce chromatogramme indique clairement les pics des différents types d'aflatoxines contenues dans la solution mère diluée à 20 ppb. Elle sert de référence pour la détection des pics représentatifs des concentrations en aflatoxines contenues dans les échantillons injectés. Le pic qui apparait en premier lieu est celle des aflatoxines de type G2 (autour de 7minute d'élution), en deuxième ce sont les aflatoxines du type G1(autour de 8min d'injection), suivent les aflatoxines du type B2(aux environs de 9min) et en dernier lieu sont les aflatoxines du type B1 sortant de la colonne( entre10 et 11min) . Donc, l'ordre de la sortie de la colonne indique le niveau d'affinité avec la phase mobile. Les molécules qui sortent premièrement ont plus d'affinité que celles qui trainent dans la colonne.

Dans notre cas, les aflatoxines du type G2 ont plus d'affinité que les autres, tandis que les aflatoxines du type B1 ont moins d'affinité avec la phase mobile.
Un autre exemple de chromatogramme est donné par l'image de la figure 14 :

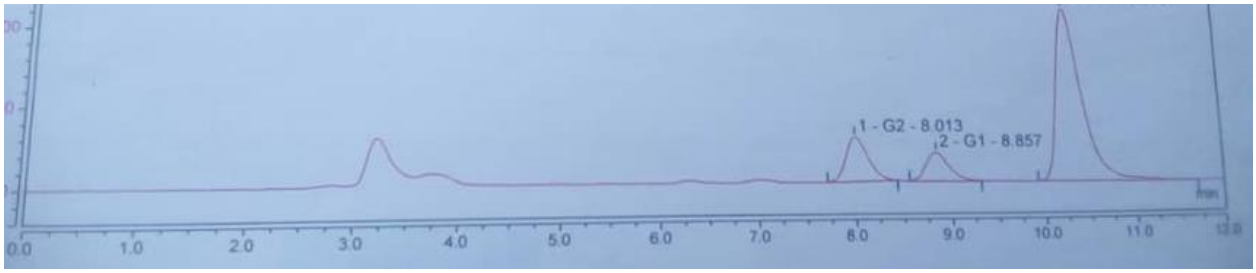



**Figure 14: Exemple d'un chromatogramme d'un échantillon d'arachide pris dans la région de la plaine**

Le chromatogramme de la figure 18 indique la détection de trois types d'aflatoxines dont G2, G1 et B1. L'échantillon ne contenait pas des aflatoxines du type B2. Les aflatoxines B sont beaucoup plus concentrées que les aflatoxines G2 et G1 selon la grandeur des pics.

### IV.1. 2. Intégration des pics et calcul des concentrations

L'intégration des pics doit être vérifiée avant l'enregistrement et chaque pic apparait au temps de rétention qui lui est propre selon le type d'aflatoxine détecté. La surface et/ou la hauteur du pic dépend de la concentration en aflatoxine pour un type donné d'aflatoxine. Plus les concentrations sont fortes, plus le pique est bien clair.

### IV.1.3. Détermination de la concentration en aflatoxines

Le processus d'intégration des pics est nécessaire pour aboutir aux pics précis. L'aire sous les pics aide à préciser les différentes concentrations sur la courbe d'étalonnage. Les concentrations en axe des abscisses, on localise la valeur de l'aire sous la courbe du pic et on projette parallèlement à l'axe des abscisses sur la courbe d'étalonnage. Une projection parallèle à l'axe des ordonnées sur l'axe des abscisses permet de précise la valeur de la concentration

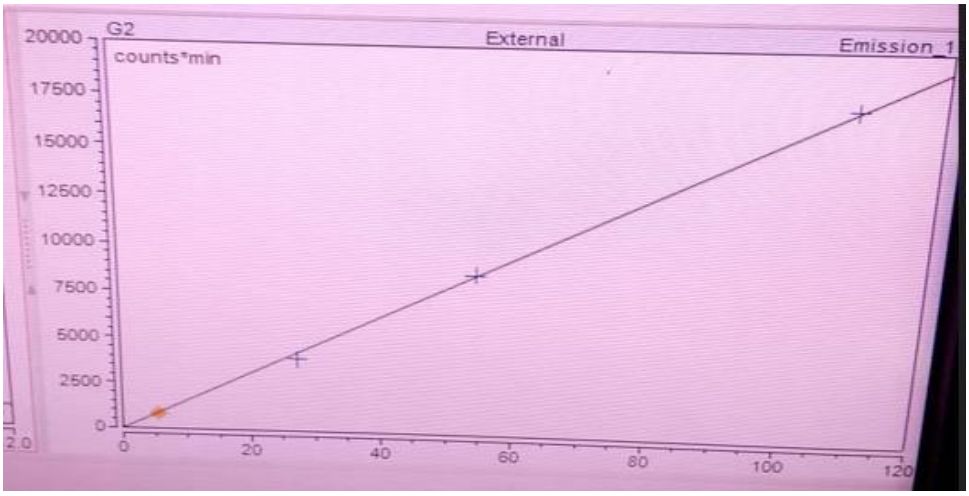



**Figure 15: Droite d'étalonnage lors du dosage des aflatoxines**

La concentration des aflatoxines en un échantillon donné est donnée par la formule :

$$\boldsymbol{m}\ \boldsymbol{réf} = \boldsymbol{C}\ \boldsymbol{réf} \quad \boldsymbol{V} = \boldsymbol{K}.\boldsymbol{A}\ \boldsymbol{réf}\ \boldsymbol{et}\ \boldsymbol{m}\ \boldsymbol{éch} = \boldsymbol{C}\ \boldsymbol{éch}.\boldsymbol{V} = \boldsymbol{K}.\boldsymbol{A}\ \boldsymbol{éch}$$

Donc, $$\boldsymbol{C}\ \boldsymbol{éch} = \boldsymbol{C}\ \boldsymbol{réf}\ \frac{\boldsymbol{A}\ \boldsymbol{éch}}{\boldsymbol{A}\ \boldsymbol{réf}}$$

Avec : m réf : masse de l'échantillon de référence (standard) ; C réf : Concentration en aflatoxines de l'échantillon de référence (standard) ; V : volume du solvant utilisé ; K i : Coefficient de réponse absolu de l'échantillon.

### IV.1.4. Présentation de la moyenne générale des résultats

Le dosage des aflatoxines dans les différents échantillons révèle l'existence des échantillons contaminés en aflatoxines surtout les farines de maïs et celles issues des graines oléagineuses. Le tableau 8 indique de façon globale les résultats obtenus après analyse des échantillons.

**Tableau 8: Résultats d'analyse des échantillons**

| Nom de l'échantillon | Nature de l'échantillon | Résultat Moyen ppb (µg/kg) | Type d'aflatoxine | Normes | | Origine de l'échantillon |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | ISO | EAC | |
| 1. Farine de manioc non fermentée | Tubercules | _ | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Gihanga (Plaine de l'Imbo) |
| 2. Farine de soja traitée pour bouillie | Oléagineuses | 0,8730 ± 0,2965 | B1 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Marché chez Sion (Plaine de l'Imbo) |
| 3. Farine de manioc fermenté | Tubercules | 0 | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Marché de Bubanza (Mirwa) |
| 4. Farine de maïs décortiqué | Céréales | 3,4706 ± 1,1101 | G1 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Marché de Mucungwe à Isaré (Mirwa) |
| | | 3,4676 ± 0,8661 | B1 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | |
| | | 0,6418 ± 0,0527 | B2 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | |
| 5. Farine complète | Oléagineuses et céréales | 0 | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Marché de Bubanza (Mirwa) |
| 6. Farine de soja cru | Oléagineuses | 0 | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Marché de Bubanza (Mirwa) |
| 7. Farine de soja traitée pour bouillie | Oléagineuses et céréales | 0 | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Marché de Mucungwe à Isaré (Mirwa) |
| 8. Farine de maïs décortiqué | Céréales | 1,0534 ± 0,5035 | B2 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Marché chez Sion (Plaine de l'Imbo) |
| | | 5,2797 ± 0,0984 | B1 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | |
| 9. Farine de manioc non fermenté | Tubercules | 0 | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Mucungwe à Isare (Mirwa) |
| 10. Farine de maïs non décortiqué achetée au moulin | Céréales | 1,1558 ± 0,0984 | B1 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Marché de Bubanza (Mirwa) |
| | | 0,3438 ± 0,1483 | B2 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | |

| **Nom de l'échantillon** | **Nature de l'échantillon** | **Résultat Moyen ppb (µg/kg)** | **Type d'aflatoxine** | **Normes** | | **Origine de l'échantillon** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | **ISO** | **EAC** | |
| 11. Farine d'arachides | Oléagineuses | 0 | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Marché de Bubanza (Mirwa) |
| 12. Farine de manioc fermenté de Bujumbura | Tubercules | 0 | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Marché chez Sion (Plaine de l'Imbo) |
| 13. Farine d'arachide de Bujumbura | Oléagineuses | 62,588 ± 2,1228 | G1 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Marché chez Sion (Plaine de l'Imbo) |
| | | 140,610 ± 1 7,625 | B1 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | |
| | | 104,5238 ±12,312 | G2 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | |
| 14. Farine de blé de Bujumbura | Céréales | 0 | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Marché chez Sion (Plaine de l'Imbo) |
| 15. Farine Busoma (complète) | Céréales et oléagineuses | 0,4053 ± 0,0863 | B2 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Marché chez Sion (Plaine de l'Imbo) |
| 16. Farine de non maïs décortiqué de la région froide | Céréales | 0 | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Ntamba (Bubanza, région froide) |
| 17. Farine de maïs décortiqué de la région froide | Céréales | 0 | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Jenda (région froide) |
| 18. Farine de soja cru | Oléagineuses | 0 | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Mabayi (région froide) |
| 19. Farine d'arachide cru | Oléagineuses | 0 | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Jenda (région froide) |
| 20. Farine de manioc non fermentée | Tubercules | 0 | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Ntamba (Bubanza, région froide) |
| 21. Farine de soja traitée pour bouillie | Oléagineuses | 3,7633 ± 0,1377 | G1 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Mabayi (région froide) |

| **Nom de l'échantillon** | **Nature de l'échantillon** | **Résultat Moyen ppb (µg/kg)** | **Type d'aflatoxine** | **Normes** | | **Origine de l'échantillon** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | **ISO** | **EAC** | |
| | | 0,6724 ± 0,1026 | G2 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | |
| | | 1,6934 ± 0,0765 | B1 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | |
| | | 0,2122 ± 0,0463 | B2 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | |
| 22. Farine de soja cru | Oléagineuses | 1,3862 ± 0,1357 | B1 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Gihanga (Plaine de l'Imbo) |
| 23. Farine complète | Céréales et oléagineuses | 0,7244 ± 0,1521 | B1 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Mabayi (région froide) |
| 24. Farine de blé | Céréales | 0 | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Marché de Bubanza (Mirwa) |
| 25. Farine de blé | Céréales | 0 | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Jenda (région froide) |
| 26. Farine de manioc fermenté | Tubercules | 0 | nd | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Mabayi (région froide) |
| 27. Farine de maïs non décortiqué | Céréales | 4,0752 ± 0,2485 | B1 | 8 µg/kg | 10 µg/kg | Rugombo (Plaine de l'Imbo) |
| nd: non détecté | | | | | | |

## IV.2. Discussion des résultats

### IV.2.1. Niveau de contamination selon les zones climatiques

Le climat défini par la température, l'altitude, l'humidité et la pluviométrie est un élément principal influençant la contamination des farines alimentaires par les aflatoxines. Ainsi, pour tous les échantillons analysés, il a été constaté que la fréquence de contamination est fonction de la zone climatique comme le montre la figure 16.

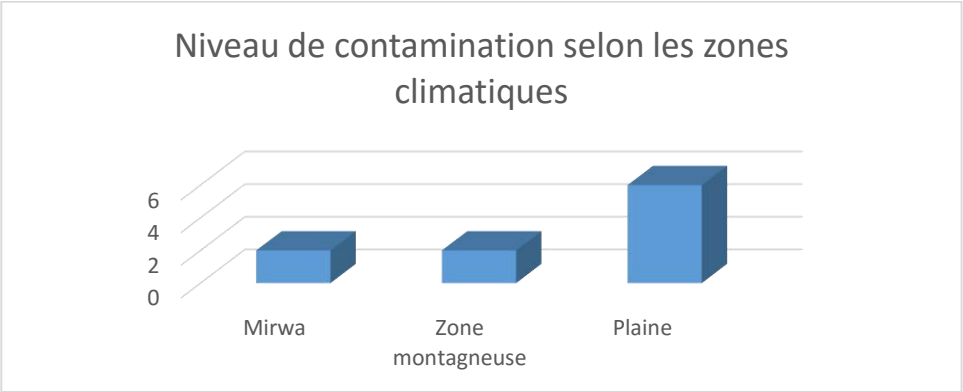



**Figure 16: Niveau de contamination selon les zones climatiques**

Sur 27 échantillons analysés au total, les aflatoxines ont été détectées dans les 10 échantillons; soit 37 %. Parmi les échantillons contaminés par les aflatoxines, 60 % proviennent de la de la plaine de l'Imbo, 20% de la région de Mirwa et 20 % de zone montagneuse (régions froides). Cette fréquence élevée des aflatoxines dans la plaine de l'Imbo est expliquée par le climat favorable de cette circonscription au développement des mycètes producteurs des aflatoxines par rapport au climat de Mirwa et celui de montagne, comme l'explique Nibasumba (2016).

### IV.2.2. Niveau de contamination selon la nature de farine

La contamination des farines alimentaires en aflatoxines est fortement liée à la nature du produit en ce qui est de sa composition nutritionnelle. En effet, des farines riches en protéines et en lipides ont une fréquence élevée de contamination.

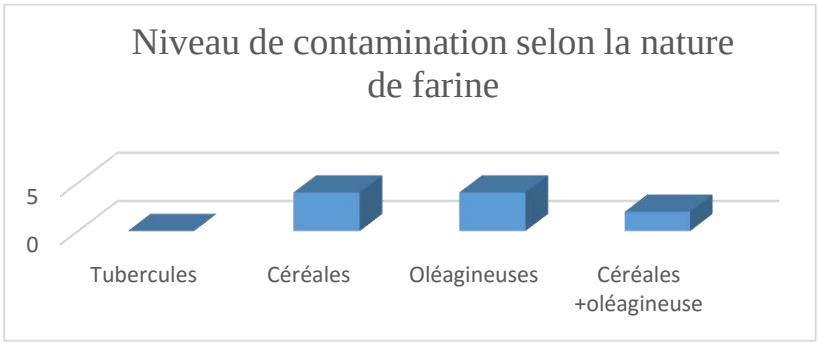



**Figure 17: Niveau de contamination selon la nature de farine.**

Nous constatons que les tubercules sont moins exposés aux aflatoxines comparativement aux graines des céréales et des légumineuses.

La fréquence de contamination est comparable pour les céréales et légumineuses, soit 40%. La non contamination de la farine de manioc fermenté ou non, par rapport aux moyennes beaucoup élevées des farines de céréales et celles issues des graines oléagineuse s'explique par la teneur très basse de la farine de manioc en matières grasses et en matières azotées par rapport aux céréales et légumineuses. Ainsi, les mycètes préfèrent des substrats riches en lipides et/ou en protéines (Hell et al, 2007).

### IV.3. Analyses statistiques des concentrations en aflatoxines des échantillons collectés

Les résultats d'analyses au laboratoire ont été traités par SPSS (tableau 9) et il a été constaté que les concentrations sont fortement liées aux conditions climatiques auxquelles les mycètes sont soumises et au type d'aflatoxine concerné. Les résultats montrent que l'aflatoxine du type B1 ont été détectées dans plus de 90% des cas et à des concentrations élevées par rapport aux autres types d'aflatoxines, ce qui concorde avec les confirmations des chercheurs comme Hassane et al. (2017) ayant démonté que ce type d'aflatoxine possède des potentialités de prolifération élevées par rapport aux autres types d'aflatoxines.

**Tableau 9: Analyse comparative des concentrations en aflatoxines selon les zones climatiques**

| **Echantillons** | | **Concentration en aflatoxines des différents échantillons** | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **FTB** | **FMD** | **FAB** | **BU** | **FSC** | **FMO** | **DP** | **FNDM** | **FDS** | **FB** |
| **FTB** | B1 | 0,87±0,30 | | | | | | | | | |
| **FMD** | B1 | | **5,2797± 0,0984** | | | | | | | | |
| | B2 | | **1,0534 ± 0,5035** P value< 0.05 | | | | | | | | |
| **FAB** | B1 | | | 140,61±17,76 | | | | | | | |
| | G1 | | | 62,588 ± 2,1228 | | | | | | | |
| | G2 | | | 104,52±12,23 P value< 0.05 | | | | | | | |
| **BU** | B2 | | | | 0,41±0,6 | | | | | | |
| **FSC** | B1 | -0,51 ±0,35 P value >5% | | | | 1,39±0,14 | | | | -0,30±0,20 P value>5% | |

| **Echantillons** | | **Concentration en aflatoxines des différents échantillons** | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **FTB** | **FMD** | **FAB** | **BU** | **FSC** | **FMO** | **DP** | **FNDM** | **FDS** | **FB** |
| **FMO** | B1 | | -1,15±0,27 $p < 0.05$ | | | | 4,08±0, 25 | | | | |
| **DP** | B1 | | 1,75±0,96, $p > 5\%$ | | | | | 3,47±0,47 0,64±0,05 3,47±1,11 $p < 0.05$ | | | |
| | B2 | | 0,41±0,54, $p > 5\%$ | | | | | | | | |
| | G1 | | | | | | | | | | |
| **FNDM** | B1 | | | 2,91±0,82, $p < 0.05$ | | | | | | | |
| | B2 | | | | | | | | 0,81±0,70 $p >5\%$ | | |
| **FDS** | B1 | | | | | | | | | 1,69±0,08 0,21±0,05 3,76±0,14 0,69±0,12 $p < 0.05$ | |
| | B2 | | | | | | | | | | |
| | G1 | | | | | | | | | | |
| | G2 | | | | | | | | | | |
| **FB** | B1 | | | | | | | | | | 0,72±0,15 |

Les concentrations les plus élevées ont été enregistrées dans un échantillon d'arachide acheté au marché situé dans la plaine de l'Imbo (146,0610 ± 1,7625 µg/Kg) d'AFB1 et celles les plus faibles ont été enregistrées dans un échantillon de bouillie à base de soja acheté au marché de la région montagneuse (0,2122 ± 0,0463 µg/Kg) AFB1. Le cas de la concentration élevée en AFB1 de la farine de maïs non décortiqué de la plaine par rapport à celle de même nature provenant de la zone des Mirwa explique l'influence de la zone climatique sur la concentration en aflatoxine. Ces résultats sont cohérents avec les informations fournies par Nying'uro (2016) montrant que l'AFB1 se développent facilement dans les céréales et les graines oléagineuses conservées dans les conditions climatiques requises (Rkiba, 2020) et que les aflatoxines prolifèrent dans des régions de basse altitude où le climat leur est favorable (environ 80% d'humidité et températures variant entre 24-35°C).

Les basses teneurs enregistrées dans les zones montagneuses s'expliquent par le climat caractérisé par la basse température non favorable au développement des mycètes. Donc, les aflatoxines détectées seraient dans le produit avant d'être transportés et la prolifération s'est arrêtée par les conditions climatiques défavorables.

Le niveau d'AFB1 élevé observé dans la farine de maïs décortiqué par rapport à celle ordinaire de la même zone climatique explique l'effet positif des procédés de transformation comme décorticage et broyage sur la multiplication des champignons producteurs d'aflatoxines par le fait de favoriser la disponibilité des nutriments nécessaires au développement de ces derniers et la répartition de ces aflatoxines dans tout le produit final (Miller et al, 2020).

Somme toute, tous les types d'aflatoxines sensées se développer dans les farines ont été recensées bien que soient présentes en quantités minimes et/ou acceptables par la réglementation régionale (EAC), admettant la consommation des produits alimentaires ne dépassant pas 10 µg/Kg. Mais, quelques échantillons ont des valeurs dépassant les concentrations admises établies par le Codex Alimentarius qui propose des concentrations de 5 µg/Kg en aflatoxines du type B1 et 15 µg/Kg en aflatoxines totales.

# CHAPITRE V. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

## V.1. CONCLUSION

L'étude a permis de confirmer la présence des aflatoxines dans les farines alimentaires consommées dans les trois provinces du Burundi et de déterminer à quelles teneurs ces aflatoxines présentent dans les farines analysées. Les résultats de ce travail vont permettre le renforcement des données en aflatoxines disponibles au Burundi afin de prendre des mesures de prévention et de traitement. L'analyse a été faite sur 27 échantillons de 9 types de farines achetées sur 9 marchés des Provinces de Bubanza, Bujumbura et Cibitoke en fonction des zones climatiques.

L'analyse se fait par chromatographie liquide à haute performance après préparation des échantillons selon la méthode LC Tech utilisée au CNTA.

Les résultats montrent que 37% des échantillons contiennent des aflatoxines dont AFB1 dans 90% des cas. Sauf un échantillon d'arachide contenant des aflatoxines à des niveaux beaucoup supérieurs aux normes admises par les normes de l'EAC, d'autres sont conformes à la norme.

Les teneurs les plus élevées sont enregistrées dans la plaine alors que les plus faibles se sont observées dans la zone montagneuse de haute altitude. Les graines oléagineuses tout comme les céréales sont beaucoup sensibles à la contamination en aflatoxines tandis qu'aucune potentialité de contamination n'a été signalée pour les farines issues de manioc ayant de faibles teneurs en lipides et en protéines.

## V.2. RECOMMANDATIONS

Etant donné l'état des lieux de l'Ouest du Burundi (Bubanza, Bujumbura et Cibitoke) sur les teneurs en aflatoxines, il est recommandé :

Aux chercheurs :

- ✓ de mener des études similaires dans d'autres Provinces présentant des reliefs autres que la plaine, la région naturelle de Mirwa et les zones de montagnes
- ✓ de faire des études approfondies sur d'autres mycotoxines dangereuses comme l'ochratoxine A et autres qui sont d'importance capitale pour préserver la qualité des denrées et protéger la santé des consommateurs.

- ✓ de faire des études approfondies sur d'autres facteurs liés à des teneurs élevées en aflatoxines et sur les formulations pouvant inhiber ou détruire les aflatoxines.

Aux services de contrôle de la qualité :

- ✓ d'organiser des ateliers de sensibilisation auprès des populations des régions des producteurs et des consommateurs logeant dans les zones potentielles en particulier et tout le pays en général sur la gestion des produits alimentaires susceptibles d'être contaminés comme céréales et graine oléagineuses sont utiles ;
- ✓ de faire des contrôles réguliers et rigoureux dans les hangars de stockage, aux marchés et dans les industries alimentaires ;
- ✓ Aux gouvernements :
- ✓ de prendre en considération la politique de prévention de la contamination aux aflatoxines et prévoir un budget destiné à cette fin.
- ✓ de soutenir et renforcer les services de contrôles de la qualité des produits alimentaires
- ✓ d'organiser des émissions radio télévisées en rapport avec les aflatoxines favorisant ainsi la grande majorité de la population d'être informée.

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

Anne, A. (1996). Sécurité alimentaire – définitions et ressorts1. La faim expliquée.31:14-29

Ayer W. A. (1981). Terpenoid metabolites of mushrooms and related basidiomycetes. Tetrahedron. 37(12) : 2197–2248.

Bastinelli, D.,. Epaku2 O.R., Bonnal L. et GRIMAUD, P., (2009). Qualité des matières premières : résultats d ' une étude en Afrique de l ' Est . Revue africaine de santé et de production animales. 1(5) : 33–40.

Biorisk, C. (2023). Aspergillus et autres moisissures productrices d'aflatoxines. Évaluation des risques biologiques dans les aliments. https://www.anses.fr/fr/content/fiches-de-dangers-biologiques-transmissibles-par-les-aliments 1–6.

Blanc, M. (2001). Législation Communautaire Sur Les AflatoxLégislation communautaire sur les aflatoxines: incidences sur le commerce de l'arachide de bouche et de la pistache. Food, nutrition and agriculture.11( 28) : 24-25.

Bourais, Li. (2006). Aflatoxines toxiques redoutables dans nos aliments. Technologies de Laboratoire. 1 : 4–8.

Chibundu, N. E. (2018). Pourquoi il faut appliquer des approches intégrées pour atténuer les risques en matière de sécurité sanitaire des aliments : le cas des mycotoxines en Afrique. International Institute of Tropical Agriculture (IITA). 1(5) : 5–7.

Codex Alimentarius Commission (CAC). (2006). Code of practice for the prevention and reduction of aflatoxin contamination in tree nuts. Codex alimentarius ccommission. 55, 1-14.14.

Cotty, P. J. (1997). Aflatoxin-producing potential of communities of Aspergillus section Flavi from cotton producing areas in the United States. Mycological Research, 101(6): 698–704.

Daniel, J. H., Lewis, L. W., Redwood, Y. A., Kieszak, S., Breiman, R. F., Dana flanders, W., Bell, C., Mwihia, J., Ogana, G., Likimani, S., Straetemans, M., & McGeehin, M. A. (2011). Comprehensive assessment of maize aflatoxin levels in eastern Kenya, 2005-2007. Environmental Health Perspectives. 119(12):1794–1799.

Diallo, S. K., Doudjo, S., Youssouf, K. K., Emmanuel, A. N., & Benjamin, Y. A. O. K. (2015). Fortification et substitution de la farine de blé par la farine de Voandzou ( Vigna subterranea L . verdc ) dans la production des produits de boulangerie. International Journal of Innovation and Scientific Research. 18(2) : 434–443.

Dieme, E., Fall, R., Sarr, I., Sarr, F., Traore, D., Alimentaire, I. D. T., & De, L. (2016). African crops contamination by aflatoxin : review of existing methods of control. International journal of Biological and chemical Sciences.10 (10), 2285–2299.

Dimanche, P. (2001). Les exportateurs d'arachide de bouche des pays du Sud pénalisés par les nouvelles normes sur l'aflatoxine édictées par l'Union européenne. Oléagineux, Corps Gras, Lipides.8(3) : 2176–2181.

Domngang, F., Tchana, A., & Moundipa, P. F. (1989). Les aflatoxines dans les céréales et les aliments prêts à la consommation au Cameroun. International System for Agricultural Science and Technology 1(10) :157–163.

Elsaadani, M. (2020). Détection des Ochratoxines A dans la production alimentaire par l'utilisation d' aptacapteur capacitif. Thèse de Doctarat, université de Montpellier. 79p.

ALI, M. (2021). Mycotoxines : comment faire face à la ménace des mycotoxines ? Revue marocaine des sciences agronomiques et véterinaires. 9 :1-11

Firew, T. H. (2020). Mycotoxins in Ethiopia: A Review on Prevalence, Economic and Health Impacts.Toxins.12(10): 1–21.

Fofana A. (2019). Aflatoxine B1 Food exposure to carcinogenic mycotoxins in the county of Séguéla ( northwestern Ivory Coast ): case of aflatoxin B1. International Journal of Biological and Chemical Sciences.13 (2): 937–949.

Galtier, P., Loiseau, N., Oswald, I. P., & Puel, O. (2006). Toxicologie des mycotoxines : dangers et risques en alimentation humaine et animale. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, 159(1) : 5–13.

Gauthier, A. (2016). Les mycotoxines dans l ' alimentation et leur incidence sur la santé. Open science. 132.

Goalbaye, T., Signaboubo, S., Markhous Nazal, A., Waya, E., & Yassi Solo, G. (2023). Aflatoxin Contamination of Maize and Groundnuts in Barh-Koh Department, Southern Chad. Journal of Applied & Environmental Microbiology ; 11(1) : 19–25.

Guerre, P. (2000). Intérêt des traitements des matières premières et de l'usage d ' adsorbants lors d'une contamination des aliments du bétail par des mycotoxines. Revue de Médecine Vétérinaire.1 : 8-11.

Guiochon, G. (2007). Monolithic columns in high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography A. 1168(1–2), 101–168.

Hassane, A. M. A., El-Shanawany, A. A., Abo-Dahab, N. F., Abdel-Hadi, A. M., Abdul-Raouf, U. M., & Mwanza, M. (2017). Influence of Different Moisture Contents and Temperature on Growth and Production of Aflatoxin B1 by a Toxigenic Aspergillus flavus Isolate in Wheat Flour. Journal of Ecology of Health & Environment. 5(3): 77–83.

Hell K. (2011). Aflatoxin control and prevention strategies in key crops of Sub-Saharan Africa. African Journal of Microbiology Research. 5(5): 459–466.

Hell et al, K. (2017). Aflatoxines et Nutrition. Food additives and contaminants. 4(11):1–9.

Jarvis, B. B. (1989). Mycotoxins - an Overview. Natural Toxins.1:17-29.

Joffin, C. (2010). Microflores pathogènes et responsables d ' altération des produits alimentaires. Identification des bactéries isolées à partir des aliments d'origine animale. 18.

Jolly, D., & Bonnefille, R. (1992). Histoire et dynamique du marécage tropical de Ndurumu (Burundi), données polliniques. Review of Palaeobotany and Palynology.75(1–2):133–151

Khaddor, M., Tantaoui-elaraki, A., Ezziyyani, M., & Candela, M. (2003). Destruction de l'aflatoxineM1 par les bactéries lactiques du lben marocain et du yaourt. Bulletin de la société de pharmacie de Bordeaux. 3(142) : 101-112

Khoury, R. E. L. (2017). La lutte biologique contre l'ochratoxine A: utilisation des extraits de plantes médicinales ainsi que des souches d'actinobactéries et mise en évidence de leur mode d'action. 1–153.

Kouassi, A., Abro, K., Agbo, E. A., Dago, A. G., Gbogouri, A. G., Kouakou, D., & Dago, G. (2015). Comparaison des caractéristiques nutritionnelles et rhéologiques des bouillies infantiles préparées par les techniques de germination et de fermentation. 9(4) : 944–953.

Lahouar, A. (2016). Mycotoxines et champignons mycotoxinogènes dans les grains de sorgho commercialisé en Tunisie : Incidence et profils écophysiologiques.Thèse de Doctorat. Université de Lieida.225.

Lopez R. (1999). Integrated mycotoxin management systems. Food, Nutrition and Agriculture.23 : 38–48.

Macauley et Tabo I. (2015). Effets des mycotoxines sur la santé et les performances des volailles. Production animales. 29(3) : 5-37.

Magnin, M., Travel, A., Bailley, J. D., & Guerre, P. (2019). Effets des mycotoxines sur la santé et les performances des volailles.1 : 217–232.

Mezhoud, K. (2023). Mycotoxines. Mycotoxines. 1 (1), 1–9.

Milani, J. M. (2013). Ecological conditions affecting mycotoxin production in cereals: A review. Veterinarni Medicina, 58(8): 405–411.

Miller et , David.J. (2020). Guide bonnes pratiques en transformation d'arachide. Meds and food for kids.3-17.

Momentum et Fremy J.M. (2016). Bụṣiňẽṣṣ | mẽđiắ & mắřķẽţiňġ. Mémoire de master. 140.

Mugisha A. et Blaise H.(2023). Ménage au Burundi :approche qualitative. International Journal of Science Academic Research.4(10) : 6375-6381.

Nibasumba, F. (2016). Amont de l ' Agriculture et de l'élévage au Burundi. Recherche Agronomique au Burundi. 1(11) : 10- 12.

Nadjet G.A., Noureddine B. et Mohamed O. H. (2016). Les mycotoxines: un danger de santé public. Mycological Research,1(1) :32–49.

Ntibwunguka, S. (2019). Etude sur la recherche et observation systématique.rapport. 52.

Nying'uro, P. (2016). Investigating Effects Of Climate Change On Aflatoxin Causing Fungi Aspergilus Distribution In Maize Over Kenya. 52.

Obura, A. (2013). Aflatoxicosis : Evidence from Kenya. Agriculture for nutrition and health. 1 (1): 0-1

OMS. (2009). Soixante-deuxieme assemblee mondiale de la sante : Sécurité sanitaire des aliments. Rapport du Secrétariat. Sécurité Sanitaire des Aliments. 62(21), 1–4.

Ongoma, V. (2013). A review of the effects of climate change on occurrence of aflatoxin and its impacts on food security in semi-arid areas of Kenya. International Journal of Agricultural Science Research.2(11) :307–311.

Parmentier, M. (1989). Procédés de transformation. Céréales en régions chaudes.3(1) :167-177.

Philizaire, Y. (2017). L' aflatoxine menace-t-elle la sécurité alimentaire en Haïti ? Haiti perspectives, 5, 43–48.

Plant P. (1935).Plant pathologfye . In Nature .136(31), 386–387.

Meriem R. & Loubna K. (2022). Les mycotoxines de *Fusarium* dans les céréales et les aliments dérivées : synthèse bibliographique**.** Mémoire de Master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A. 34.

Razafimahefa, Razanamparany, J. L., Bokanga, M., & Abass, A. (2010). Production et utilisation des farines de manioc dans la Boulangerie. 58.

Rhoads, J. (2018). Achieving sustainable cultivation of grain legumes . preventing mycotoxin contamination in groundnut cultivation. 2(7):23-28.

Ruppol, P. Delfosse, P., & Hornick, J. L. (2004). La contamination de la filière laitière par les mycotoxines: Un risque pour la santé publique en Afrique subsaharienne. Annales de Medecine Veterinaire. 148(3), 141–146.

Sabushimike, J. M., Publique, S., La, E. T. D. E., Contre, L., Sida, L. E., Lutte, C. N. D. E., Sida, C. L. E., & Permanent, S. E. (2017). Partie du rapport de la 3ème Communication Nationale sur le Changement Climatique.46

Schroeder, H. W. (1969). Factors influencing the development of aflatoxins in some field crops. Journal of Stored Products Research. 5(3) : 187–192

Seujib, A. N. (2022). Les déterminants de la non-conformité des produits agricoles subsahariens aux normes internationales. Région et développement. 17(56) :2-14.

Sihem, A. (2021). Caractéristiques chimiques et biologiques (Champignons microscopiques) d'un sol agricole irrigué avec des eaux usées épurées et amendé avec des boues de station. Mémoire. Université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou. 59.

Sika, A. E., Kadji, B. R. L., Dje, K. M., Kone, F. T. M., Dabonne, S., & Koffi-Nevry, A. R. (2019). Nutritional, microbiological and organoleptic quality of composite flour from maize (Zea mays) and safou (Dacryodes edulis) made in Côte d'Ivoire. International Journal of Biological and Chemical Sciences. 13(1):325–337.

Dermeche K.(2017). Microbiologie Générale.

Tafese Awulachew, M. (2020). Understanding Basics of Wheat Grain and Flour Quality. Journal of Health and Environmental Research. 6(1) :10-16.

Unique, A. (2016). Rapport de la septieme session du comite du codex sur les cereales, les legumes secs et les legumineuses .Organisation Mondiale de La Santé.1 ( 0) : 1–23.

Walker S. et Davies B. (2013). Aflatoxins: finding solutions for improved food safety farmer perceptions of aflatoxins: implications for intervention in Kenya. Agriculture for nutrition and health. 7(20): 1-2

W.hitlow et L W. Hagler, W M (2005). Molds and Mycotoxins in Feedstuffs - Prevention and Treatment: 123-142

West A. et Street A. (2017).. Evaluation de La Sécurité Alimentaire En Situation d'urgence. Analyse sécurité alimentaire. 2(44) : 30–34.

Zinedine A. et Mañes J. (2009). Occurrence and legislation of mycotoxins in food and feed from Morocco. Food Control .20(4) :334–344.

# ANNEXES



Cylindre de centrifugation



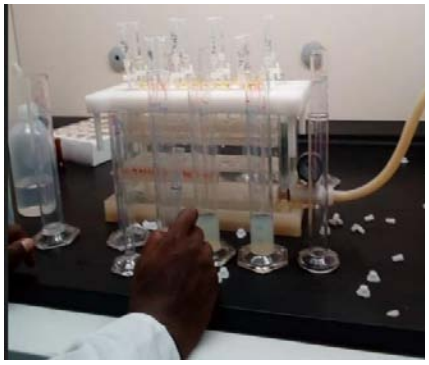

Solution mère d'aflatoxine



Balance analytique



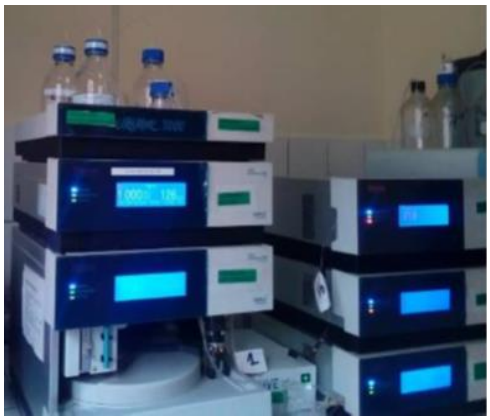
Agitateur électrique



Purification par les colonnes d'immuno-affinitiné



Purification-élution



L'appareil HPLC du CNTA