

L' (A) FLATOXINE

H. Dupin, J. Foury, H. Giorgi, Cl. Richir, C. Quenum, A. Wane et J. Cro

HISTORIQUE :

C'est à NINARD et HINTERMANN (17) que l'on doit d'avoir fait en 1945 le rapprochement entre le facteur alimentaire et les tumeurs du foie chez le porc alimenté à partir de tourteaux. Les auteurs ont mis en évidence deux stades de la maladie, un l'atrophie jaune aiguë du foie chez les animaux jeunes, l'autre la constitution d'hépatomes chez les animaux plus âgés.

La cause des lésions a paru d'emblée devoir être rapportée à des tourteaux. Tous les tourteaux ne donnent pas de lésions hépatiques ; seuls les tourteaux préparés par pression mécanique sont pathogènes ; le toxique paraît donc être une substance différente des corps gras, présente dans les tourteaux de pression, insoluble dans l'huile et extraite par les solvants habituels. Enfin, l'origine des tourteaux est un facteur important ; le rôle pathogène du tournesol et du cacao est éliminé ; les tourteaux de coton, arachide et karité, par contre, ont été reconnus toxiques.

CAMPBELL, puis SCHOENTAL (22) ont décrit des lésions provoquées par les alcaloïdes du Senecio et le problème des substances cancérigènes pour le foie présentes dans les aliments a été évoqué par BRAS (6) au Vème Congrès International de Nutrition.

En 1960, BLOUNT (5) rapporte une épidémie survenue dans les élevages de dindons en Angleterre. Il décrit une nouvelle maladie dite "Maladie X des dindons". L'examen post-mortem des volatiles a révélé une nécrose aiguë du foie. Les recherches n'ont révélé ni la présence d'un agent toxique, ni contamination par un insecticide, ni

toxine végétale, ni alcaloïde connus.

Cependant, BLOUNT a constaté que la mort survenait à la suite de l'utilisation d'une farine d'arachide du Brésil dans la nourriture des animaux.

LOOSMORE et MARKSON (15) signalent la même année des intoxications par le tourteau d'arachide brésilien, cette fois ce sont les bovins qui sont atteints, après avoir consommé une nourriture contenant 10 à 15 % de farine d'arachide. Là aussi, on retrouve des lésions typiques du foie. Dans tous les cas, les symptômes, ne peuvent être distingués de ceux par l'empoisonnement par le Senecio. La dose totale de substance toxique paraît être plus importante que le taux de consommation du tourteau d'arachide. Les animaux âgés sont moins sensibles que les jeunes. Ce point de vue est confirmé par GRAY (10) qui rapporte la mort de veaux âgés de 3 mois ; depuis l'âge de 3 semaines leur alimentation contenait du tourteau d'arachide. Un animal paraît avoir répondu à la vitaminothérapie A.

ALLCROFT, CARNAGHAN, SARGEANT et O'KELLY mettent en évidence la toxicité de la farine d'arachide du Brésil, pour (1) les canetons, mais ne trouvent pas que l'effet de la toxine soit augmenté par le chauffage. Ils réalisent différentes méthodes d'extraction et font des essais biologiques sur le caneton ; enfin, ils font la preuve que l'agent toxique des tourteaux d'arachide n'est pas un alcaloïde du type pyrrozzolidine, ni une forme N-Oxide d'un tel alcaloïde.

CARNAGHAN et SARGEANT (7 - 20) démontrent la toxicité de certains tourteaux d'arachide des provenances les plus diverses Inde, Afrique pour la volaille et adoptent définitivement le cane-

.../...

ton d'un jour comme animal d'expérience, après une série d'études ASPLIN et CARNAGHAN (13).

En France, E. LE BRETON et coll. (13-14) ont leur attention attirée par l'apparition d'hépatomes spontanés chez les rats de laboratoire et trouvent un tourteau d'arachide toxique dans le régime.

HUEPER et PAYNE (11) décrivent une épidémie d'hépatomes chez les poissons d'élevage, avec une fréquence de 100 % à la suite de l'introduction dans le régime de tourteaux d'arachide.

MOOSMORE et HARDING (16) décrivent un facteur toxique dans le tourteau d'arachide du Brésil; cette toxine apporte des modifications du parenchyme hépatique déjà trouvée par NINARD et HINTERMANN.

MISE EN EVIDENCE DE L'AFBLATOXINE

Ce sont les chercheurs du Tropical Institute de Londres et du Central Veterinary de Weybridge qui ont découvert, séparé et dosé la toxine des tourteaux d'arachide.

SARGEANT, SHERIDAN, O'KELLY et CARNAGHAN (21) ont eu l'attention attirée par un échantillon particulièrement toxique en provenance de l'Ouganda et ont découvert que les arachides étaient contaminées par des champignons. Huit de ces derniers mis en culture et isolés ont poussé pendant 7 jours à 27 ° C sur une solution de Czapek et ont été extraits au chloroforme; un des extraits montrait qu'il contenait une substance fluorescente Rf 0-7 dans le Butanol 5% acide acétique. Ces extraits

qui possédaient la propriété physique de la toxine, administrés à des canards reproduisit fidèlement les lésions observées . Le champignon produisant la toxine était identifié comme l'Aspergillus Flavus souche ex-Fries et le produit secrété était nommé Aflatoxine.

METHODE PHYSICO-CHIMIQUE DE DETECTION DE L'AFLATOXINE

Technique du Tropical Products Institute T.P.I Report 25/62 (24).

Extraire 800 g d'arachides finement pulvérisées ou de farine pendant 6 heures par du Méthanol dans un Soxhlet de 200 ml. Chasser le solvant au Bm et les dernières traces par le vide. (Bonne trompe à eau).

Diluer le résidu dans 80 ml d'eau et extraire au chloroforme pendant 2 à 3 heures dans un appareil à extraction continue. Chasser le solvant au BM et les dernières traces par le vide.

Dissoudre le résidu dans 50 ml d'un mélange à parties égales de méthanol et d'éther de pétrole (E° 40-60°).

Agiter - Ajouter 2,5 ml d'eau et agiter à nouveau.

Soutirer la couche inférieure et la laver à l'ether de pétrole (3fois 25 ml). Chasser le solvant de cette couche inférieure au BM et terminer sous pression réduite.

Le résidu est repris par quelques ml d'eau et agité à 2 reprises avec du chloroforme (30 à 40 ml environ au total). On obtient un extrait chloroformique que l'on passe sur une colonne d'alumine neutre pour chromatographie (environ 10 g pour une

.../...

colonne de 2 cm de diamètre ; Hitherto Woelm Alumine neutral B.R.I

Eluer par 100 ml d'un mélange chloroforme 95 méthanol 5. Chasser le solvant de l'éluat au BM et dissoudre le résidu dans 10 ml de chloroforma.

Déposer une partie aliquote (1/50 e = 0,2 ml) sur une ligen de départ d'un papier Watman N°1 (plus exactement 2 taches d 0,2 ml). Le restant de la solution chloroformique qui représente les 48/50 est concentré au BM et déposé en une tache voisine.

Effectuer une chromatographie ascendante pendant une nuit avec la couche supérieure d'un mélange N-Butanol, acide acétique -eau (20/1/19).

Une tache à fluorescence bleue de rf 0,6 à 0,8 indique la présence d'aflatoxine. On peut détecter la présence d'1/2 microgramme dans l'échantillon.

On peut comparer la tache fluorescente obtenue à celles produites par un extrait aussi purifié que possible : d'abord les taches de 1/50 à puis, si la fluorescence est insuffisante, on compare la tache de 48/50è aux taches étalons.

On a établi la gamme étalon suivante, selon l'intensité de la fluorescence :

Fluorescence

Quantité approximative d'Aflatoxine

Très forte
Forte
Moyenne
Faible
Négative

(en mg par Kg)
> 2
0,5 - 2
0,1 - 0,5
0,005 - 0,1
< 0,005

Correspondance entre fluorescence et toxicité

- | | |
|---|---|
| 1) Fortement toxique
Correspond en gros aux
fluorescence forte et
très forte. | Les canetons meurent avec les lésions histologiques caractéristiques. Il est habituellement possible dans ce cas d'indiquer le poids approximatif du produit qui contient une quantité de facteur toxique suffisant pour tuer les canetons. |
| 2) Modérément toxique
Correspond grossièrement
à la fluorescence moyenne. | Les canetons survivent après les 4 jours de régime toxique et sont tués le 7ème jour. Les lésions caractéristiques du foie sont présentées à un degré assez marqué (+++ ou ++++) |
| 3) Faiblement toxique
Correspond à la partie
inférieure des fluorescences moyenne et aux fluorescences faibles. | Les canetons survivent et sont sacrifiés le 7ème jour. Présence des lésions hépatiques caractéristiques, mais moins sévères (+ et ++). |
| 4) Non toxique
Correspond à la majeure
partie des fluorescences
"faibles" et "négatives". | Les canetons survivent et sont sacrifiés le 7ème jour. Pas de modifications histologiques du foie. |

Une méthode différente T.P.I Report 30/62 () a été mise au point récemment. Le solvant utilisé n'étant plus un mélange Butanol-Acide acétique-Eau, mais Benzène-Toluène-Cyclohexane-ethanol-eau (3.3.5.8.5).

.../...

METHODE BIOLOGIQUE DE DOSAGE DE L'AFLATOXINE

On opérè sur des canetons d'un jour (mâles et femelles indifféremment) que l'on identifie au moyen de bandes colorées fixées à la patte et de N° de référence fixés à l'aile.

Au moyen d'une seringue graduée à l'embout de laquelle est adapté un petit tube de polyéthylène de 7 à 8 cms, on introduit 0 ml 5 d'extrait dans le gésier du caneton (1 ml d'extrait = 24 g de farine d'arachides).

On les place 1 heure après dans les couveuses maintenues à ° où ils sont nourris avec un aliment pour volaille (sans arachides) ; on prépare ainsi 3 canetons par extrait ainsi qu'un lot témoin.

Le 2ème jour, selon les symptomes observés, on donne au caneton une même dose de 0,5 ml ou une dose supérieure ; on répète l'opération 4 jours de suite ; le 7ème jour, on sacrifie les survivants et on prélève le foie pour examen histologique.

Dès qu'un caneton meurt, on prélève également le foie ; on fixe pendant 24 heures dans du sérum physiologique renfermant 10 ù de formol ; on pratique des coupes en paraffine et on colore à l'hématoxyline-éosine.

Le foie des canetons qui meurent rapidement présente extérieurement des hémorragies locales ou diffuses et un aspect chagriné : la mort se produit avec cou et pattes en extension.

Avec les produits très toxiques entraînant la mort du caneton dans les 48 heures, on observe une nécrose massive des

.../...

cellules du parenchyme hépatique avec hémorragies diffuses dans le foie.

Avec des produits moins toxiques ou des canetons plus âgés, on observe une dégénérescence du parenchyme hépatique, les cellules sont hypertrophiées et présentent souvent des vacuoles ; les noyaux sont également augmentés de volume et on observe de la caryorrhexie et de la caryolyse ; concurremment, on note une prolifération de l'épithélium des canaux biliaires ; des formations de cellules basophiles irradiées autour des vaisseaux du système porte.

Sur des animaux soumis pendant plusieurs semaines à un régime renfermant 10 % de farine d'arachide toxique, on ne voit plus que de petits îlots de parenchyme apparemment normal, entourés de masses de cellules épithéliales biliaires et de tissu fibreux. La phlébite se manifeste à des degrés variables et peut, dans certains cas, provoquer l'obstruction totale du lumen des vaisseaux.

Dans le pancréas, on observe invariablement des aires de dégénérescence du tissu acineux avec hypertrophie des cellules, caryorrhexie et perte des caractères habituels de coloration.

EXAMEN MYCOLOGIQUE DE GRAINS D'ARACHIDE - AUSTWICK (;)

Recherche de l'Infection Mycologique

1 - Sur les farines

L'échantillon est lavé par agitation avec de l'eau distillée dans un gros tube à essai ; on rejette l'excès d'eau

.../...

et on verse le magma sur une double feuille de papier buvard épais.

Examiner à la loupe binoculaire (X 30) et recueillir au moyen d'une aiguille les morceaux de tissu jaune, orange ou brun que l'on place dans une goutte de KOH à 20 % sur une lame et écraser sous une lamelle, examen microscopique (X 120 et X 500) pour caractériser l'arachide par ses cellules rectangulaires à parois épaisses ; on peut observer 3 types de hyphes : très étroit, largeur moyenne avec septa et grande largeur sans septation.

IK - Arachides en graines

Triage

On opère un triage d'après l'aspect macroscopique.

- a) graines saines avec testa rouge et cotylédons blancs
- b) " " " " rose " " "
- c) graines intactes ou brisées avec cotylédons jaune, orange ou bruns.
- d) graines cassées ou abîmées avec cotylédons blancs.

Seules les graines de la catégorie C se révèlent toxiques.

L'auteur établit par la suite une classification plus détaillée.

A - Graines entières, sans brisure de la pellicule

- a) pellicule rouge Chair des cotylédons blanche, ferme, non ratatinée; pas de discoloration évidente sur la pellicule ni sur les cotylédons, sauf pour la catégorie C où la coloration pénètre jusqu'à 0mm5 environ.
- b) pellicule rose
- c) pellicule violette (dark-purple)
- d) pellicule brune

B - Graines présentant des détériorations

Perte partielle ou totale de la pellicule, ratatinement, coloration ivoire ou jaune de la chair, brisure, mycélium externe.

a) Chair blanche

- 1) ridée : Surface nette, mycélium
- 2) non ridée : id.

b) Chair légèrement jaune

- 1) ridée : id.
- 2) non ridée : id.

c) Chair jaune foncée, orange, chamois ou brun (coloration partielle ou totale)

- 1) ridée : Surface nette, mycélium en surface
- 2) non ridée : id.

Culture

Les graines sont brisées à la main dans le sens transversal; sur la brisure, on prélève aseptiquement des pièces fines de 1 à 2 mm que l'on enseme en boîtes de Pétri sur:

- a) agamalte à 2% renfermant 20 U de pénicilline et 40 U de

.../...

streptomycine par ml.

b) sur Czapek Doxagar renfermant 20% de sucrose.

c) sur papier filtre stérile humide.

5 inoculat dans chaque boîte de Pétri - Culture à 25° .

Examen microscopique

Prélever à l'intérieur de la graine de fines lamelles de chair et les placer dans de petits flacons renfermant 2 à 3 ml de Teepol à 10%; chauffer au BM bouillant 1 à 2 heures pour déshuiler. Monter sur lames avec une goutte de potasse caustique à 20%; chauffer et écraser sous une lamelle.

Examen microscopique (x 120 et x 500) pour rechercher les hyphes.

Germes isolés des tissus

Le plus fréquent est l'*Aspergillus flavus*; rarement seul, associé à *A. Niger* et *A. Tamarii*.

Egalement *A. fumigatus*, *ruber*, *nidulans* *Fusarium* spp.

Rhizopus arrhisus, *Botriodiplodia theobromae*.

Penicillium spp.

Germes isolés des mycélium de surface -

Aspergillus Niger

Fusarium oxysporum

Par culture de 10 jours à 25° sur milieu de Czapek-Dox ou de 7 jours sur milieu glucose-nitrate d'ammonium (Brian 1961), on obtient des filtrants à fluorescence bleue.

EXPERIMENTATION PERSONNELLE

1°) Sur des rats Whistar, de souche Wag, âgés de 4 semaines, d'un poids moyen de 40 grammes, sevrés brutalement pour être soumis aux régimes suivants: Soit 4 catégories de régime:

DRT 0

DAT 40

BAT 18

DTTV20

chaque catégorie comprenant 10 individus.

DRT 0 Diète Régime Témoin contenant 0 arachide

DAT 40 Diète Arachide Toxique 40% en poids de farine d'arachides

toxiques.

DAT 18 Diète arachide Toxique 18% en poids de farine d'arachides entières toxiques

DTT 20 Diète Tourteaux Toxique 20% en poids.

Note: Les graines d'arachides toxiques nous ont été aimablement fournies par les Etablissements Lesneur Afrique à Dakar, leur toxicité a été mise en évidence par la méthode du T.P.I. de Londres(24) (Chromatographie, fluorescence en U. V.) .Cette toxicité était faible. Pour les tourteaux de même origine, la toxicité évaluée par la même méthode était forte.

R E G I M E S

<u>Constituants</u>	<u>DRT 0'</u>	<u>DAT 40</u>	<u>DAT 18</u>	<u>DTT 20</u>
Caséine	40	22	25	20
Huile d'arachide	12	-	-	12
Farine arachide toxique: (arachides entières)	-	40	18	-
Farine tourteau d'arachide toxique	-	-	-	20
Farine de blé	58	28	47	38
Son	6	6	6	6
Mélange d'Osborn et Mandel	4	4	4	4
Vitamines	1	1	1	1
	100	100	100	100

Ces 4 lots de rats sont restés pendant 8 semaines à ces régimes, avant d'être décimés par une épidémie de pneumonie. Les analyses histologiques des organes sont en cours.

.../...

L'évolution des courbes de poids est donné dans le tableau ci-après:

Les témoins sont passés de 39g à 130g en 8 semaines soit un gain moyen par semaine de 16g.

Les DAT 40 sont passés de 42g à 96g en 8 semaines soit un gain moyen par semaine de 13,5g.

Les DAT 18 sont passés de 43g à 110g en 8 semaines soit un gain moyen par semaine de 16,7g.

Les DTT 20 sont passés de 45g à 94g en 8 semaines soit un gain moyen par semaine de 12g.

Il apparait donc que les séries dans lesquelles la concentration d'aflatoxine était importante: Série DAT 40 et Série DTT 20, nous avons un déficit de croissance pondérale de l'ordre de 25%, ce qui est conforme avec les résultats de LANCASTER, JENKINS et PHILIPS (12).

2° - Sur des rats de souche Whistar soumis à un régime contenant de l'Aflatoxine, (9), nous avons mis en évidence un hépatome de type trabéculaire. C'est le premier résultat publié en Afrique. Cette tumeur est identique à celles trouvées par LANCASTER ET COLL.(12), E.LE BRETON et COLL.(13).

3° - Sur des singes (Cynocéphales), nous avons mis en train deux séries comprenant 3 sujets, chacune de jeunes cynocéphales (18 mois) de sexe mâle, avec les régimes suivants:

.../...

REGIME TEMOIN

Caséine	33 g
Saccharose	53 g
Mélange salin	4 g
Huile d'arachide	9 g
Polyvitamine	1 g
	<hr/>
	100 g

REGIME TOURTEAU
TOXIQUE

Tourteau d'arachide	33 g
Saccharose	53 g
Mélange salin	4 g
Huile d'arachide	9 g
Polyvitamine	1 g
	<hr/>
	100 g

Note: Les tourteaux d'arachide sont en provenance des Etablissements Lesieur Afrique. Leur toxicité a été déterminée par la méthode du Tropical Products Institute de Londres. Elle est forte pour les tourteaux employés. //

Les animaux sont au régime depuis 3 mois. Nous avons noté une modification de selles de la série Régime Tourteau Toxique. Les selles sont de consistances plus pâteuse et plus abondante en volume que celles de la série Témoin; elles sont également décolorées. Les animaux qui ont été du tourteau dans leur nourriture sont plus apathiques que leurs voisins. Enfin, leur poids moyen est inférieur à celui du groupe témoin.

4° - Enfin, il nous a paru intéressant de rapporter les faits suivants "Dans le courant de 1961, la ferme du Laboratoire Fédéral de l'Elevage à Sangalkam a perdu la totalité de ses cobayes ON trouvait à l'autopsie une nécrose aigüe du foie. Les efforts d

microbiologistes pour mettre en évidence un germe ou un virus, se révélèrent vains. Une série de géniteurs furent importés de France, pour reconstituer l'élevage décimé; après désinfection poussée des locaux. Les animaux présentèrent les mêmes symptômes et moururent au bout de quelques semaines. Nous avons demandé la composition de leur alimentation. Leur régime était le suivant:

Maïs	40 g
Orge	23,5
Farine de Luzerne	5
Farine de poisson	8
Farine de viande	2
Tourteau d'arachide	20
Poudre de coquillages ...	1
Sel marin	0,5
	<hr/>
	100 g

Les prélèvements d'échantillons que nous avons fait sur le stock de tourteau d'arachide nous ont permis de rechercher la présence d'aflatoxine. La toxicité allait du degré le plus faible au degré moyen. Peut-être était-elle plus élevée dans les lots consommés. En effet, la présence de toxine est très inégale suivant les lots. Néanmoins, le fait d'avoir mis en évidence la toxine dans les tourteaux en provenance du même fournisseur, pourrait expliquer la mystérieuse épidémie qui a détruit l'élevage des cobayes. L'Aflatoxine est également toxique pour cet animal, (Schoental).

ETUDE ANATOMO-PATHOLOGIQUE des LÉSIONS HEPATIQUES CAUSES par l'AFLATOXINE

a) Les caractéristiques histologiques des lésions sur les foies de canard sont les suivants:

Une prolifération rapide et extensive de trainées de cellules

.../...

radiaires autour des vaisseaux porte. Ces cellules sont arrangés de façon tubulaire, sont fortement basophiles et ressemblent à l'épithélium des canaux biliaires. Les cellules contiennent de nombreux vacuoles. Les noyaux sont agrandis et l'on voit des images de caryorexie et de caryolyse. Des lésions semblables ont été observées sur les dindons atteints de "La Maladie des dindons" Allcroft, Carnaghan, Sargeant, O'Kelly(1).

b) Chez les Bovins. Le foie est pale, dur et fibreux, on note une considérable prolifération des canaux biliaires qui réalisent de multiples aspects ressemblants à de petits canaux biliaires, fréquemment on trouve une oblitération par endophlébite des veines hépatiques et centrolobulaires. Il existe également une variation considérable dans les formes et l'aspect des cellules hépatiques, qui contiennent un nucléole très basophiles et d'une taille inaccoutumée. Enfin, une fibrose diffuse détruit la structure lobulaire(15) Loosmore et Markson(15).

c) Chez les poulets. Les cellules ne sont pas basophiles comme chez les canards quand elles sont fixées par l'hématoxyline-éosine. Les lésions de dégénérescence et de régénération sont les mêmes, mais on note chez le poulet une hyperplasie lymphoïde au niveau des aires de régurgations (Asplin et Carnaghan(3)).

d) Chez le Rat. Le foie est deux fois plus gros que la normale avec une surface nodulaire irrégulière de couleur jaune brun avec un piqueté hémorragique et de nombreuses lésions jaunâtres, de 1 à 2mm de diamètre. Les nodules sont des tumeurs hépatiques de 3 types: des hépatomes lobulés durs jaunâtres, des kystes sanguins et des kystes biliaires, (Lancaster, Jenkins, Mc.Philips(12)). Des hépatocarcinomes de type trabéculaires sont retrouvés

dans divers élevages en France. E. Le Breton et Coll(13).et en Afrique H. Dupin et Coll(9).

c) Chez le porc. Loosmore et Harding(16) décrivent 3 types de lésio

1) type aigu: l'architecture du lobule est détruite. Les cellules du parenchyme hépatique varient de forme et d'aspect et un certain nombre contient des noyaux fortement agrandis, souvent avec un nucléole proéminent. Les canaux biliaires sont quelquefois présents, les cellules sont fortement chargés en lipides. Les cellules plus basophiles forment des tests incomplets, ces cellules ressemblent à des épithéliums des canaux biliaires. Une fibrose légère sépare et isole de petits groupes de cellules parenchymateurs.

2) type subaigu : Une place plus grande est faite à la fibrose, surtout des veines centro-lobulaires.

3) type chronique : Il n'y a pas de changement dans les lipides cellulaires et le nucléole, les septum sont légèrement minces et les lobules séparés par d'étroites bandes de tissu fibreux. Dans certains cas, la veine centrale semble dédoublée. Il n'y a pas d'obstruction veineuse.

CONDITIONS D'APPARITION DE L'ASPERGILLUS FLAVUS.

Aspergillus Flavus, dont la souche ex-Fries secrète l'Aflatoxine est une moisissure très répandue que l'on trouve couramment dans les sols tropicaux et qui peut pousser sur les produits alimentaires conservés dans de mauvaises conditions. Les caractères du climat tropical lui assure un développement rapide: 30° environ et une humidité relative égale ou supérieure à 80% (8) (26); ceci correspond à un taux d'humidité de 9% dans les graines d'arachides et d'environ 16% dans les tourteaux et les farines.

La toxicité observée sur des lots d'arachides est également due à une petite proportion de graines contaminées dont la chair présente des colorations anormales (généralement jaune).

"L'Inter Départemental Working Party on groundnut toxicity Research" a cherché à déterminer quelles sont les causes favorisant le développement d'*Aspergillus flavus* sur les arachides, et les précautions à prendre pour essayer d'éviter cette contamination:

1°) Dans le sol, l'humidité des graines est élevée. Mais l'Aflatoxine ne paraît pas se produire à ce niveau; il semble que les coques constituent une barrière efficace et qu'un mécanisme protecteur naturel empêche le développement des spores qui pourraient se trouver dans les graines.

Cependant les graines peuvent devenir toxiques en terre si on les y laisse au delà de la maturité ou si les coques sont abîmées.

2°) Au cours du séchage dans les champs, l'humidité des graines ne baisse que lentement et il semble que c'est à ce stade que se produit le développement de l'*Aspergillus*; là encore le bon état des coques semble assurer une protection, les graines contaminées étant principalement celles dont les coques sont endommagées.

3°) Au cours du transport et du stockage. Si le taux d'humidité des graines ou des tourteaux est maintenu au-dessous des chiffres précédemment cités on n'observe pas de contamination à ces stades. Par contre la pluie ou un mouillage accidentel au cours de ces opérations peuvent élever l'humidité d'une partie des graines et être la cause du développement de l'*Aspergillus* toxique.

Angladette et Chabrolin (2) signalent la présence d'*Aspergillus*

flavus sur le riz en Inde et au Japon.

Les recommandations formulées découlent des observations précédentes:

1°) Les graines ne doivent pas être récoltées avant maturité ni laissées en terre après maturité; la récolte doit se faire en saison sèche partout où cela est possible; enfin il faut éviter au maximum d'endommager les coques.

2°) Séchage. Il ne faut pratiquer le décorticage préalable sauf si on opère un séchage artificiel. Au cours des manipulations éviter le plus possible d'abimer les coques.

Dans les régions où la récolte se fait vers la fin de la saison des pluies, l'emploi de huttes de séchage avec foyer de chauffage est bénéfique; on peut également placer les plantes sur claies en abri couvert et ouvert sur les côtés pour permettre la ventilation. Dans le séchage en meules, il faut éviter le contact avec le sol et protéger de la pluie par une couverture en chaume; les meules doivent être de forme et de dimensions permettant un séchage rapide.

Le taux de 9% d'humidité dans les graines a été mentionné comme limite au-dessous de laquelle *Aspergillus Flavus* ne se développe pas mais il vaut mieux atteindre 7% pour s'assurer une marge de sécurité et diminuer les risques de contamination.

3°) Décorticage. Il serait utile mais peu facilement réalisable d'écarter les arachides à coques endommagées; de même toutes les graines moisies, ratatinées ou anormalement colorées devraient être éliminées. Les arachides de bouche sont déjà soumises à de telles opérations de triage.

4°) Stockage et transport

Il faut s'assurer qu'au cours de ces opérations, les graines ne seront pas susceptibles de voir leur taux d'humidité augmenter au delà des limites fixées (degré hygrométrique élevé, pluies rosées nocturnes abondantes).

5°) UTILISATION.

Ne pas mélanger les lots de graines endommagées avec les graines saines si les tourteaux doivent être utilisées ultérieurement pour la préparation des farines alimentaires ou pour l'alimentation du bétail; il faudrait dans ce cas déterminer expérimentalement le degré de toxicité du produit.

CONCLUSIONS

Le problème soulevé par la découverte de la toxicité de certains lots d'arachide intéresse directement le nutritionniste qui constitue un chaînon entre producteurs et consommateurs et, sur le plan gouvernemental, entre les Services de l'Agriculture et de l'Elevage d'une part et les Services de Santé Publique d'autre part.

Les incidences de ce problème peuvent en effet être de deux ordres

1°) Incidences sur la Santé Publique.

Rien jusqu'ici ne peut prouver de façon évidente la nocivité pour l'homme d'aliments contaminés par cette souche toxique d'*Aspergillus Flavus*.

Cependant son action cancérigène sur les animaux de Laboratoire est démontré et se traduit principalement par des hépatomes.

D'autre part, le cancer hépatique humain est fréquent en Afrique et en Asie où les conditions climatiques sont favorables au développement de l'*Aspergillus flavus* sur les produits alimentaires stockés. Si les facteurs étiologiques responsables du cancer sont nombreux, on ne peut à priori écarter les facteurs nutritionnels qui peuvent constituer une cause favorisante ou accélérante.

2°) Incidences d'ordre économique.

La découverte de ce facteur toxique se développant sur l'arachide peut avoir des répercussions graves sur l'économie et les échanges commerciaux des pays producteurs. De nombreux articles

ont déjà été publiés dans les revues scientifiques et techniques et les éleveurs, qui constituent les gros acheteurs de tourteaux risquent d'être alertés.

En Grande Bretagne, déjà le "Trade Association" A recommandé aux fabricants d'aliments pour animaux un code concernant les tourteaux et farines d'arachide; tout produit arrivant en Angleterre doit être testé et son utilisation est en fonction de la toxicité trouvée.

Si le contrôle du produit peut être envisagé systématiquement au Sénégal pour les farines destinées à l'alimentation humaine, il devient beaucoup plus difficile de le prévoir pour l'ensemble des tourteaux fabriqués; les lots ne sont en général que partiellement contaminés et il est difficile d'effectuer sur ces lots des prélèvements homogènes représentatifs.

En outre, le problème doit être pris à la base et la solution d'avenir consiste à éviter le développement de l'Aspergillus au cours des diverses opérations depuis la récolte des arachides jusqu'à l'exportation des tourteaux.

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

- 1 - ALLCROFT.R., CARNAGHAN.R.B.A., SARGEANT.K.; OAKELLY.J.
A toxic factor in Brazilian Groundnut meal
Vet. Rec. 1961 Vol 73 p. 428.
- 2 - ANGLADETTE.A. et CHABROLIN
Compte-rendus de la IXème Session du Groupe de Travail sur la
Production et la Protection du Riz; et de la VIIIème Session du Groupe
de Travail sur les sols, les engrais et les eaux de la Commission
internationale du Riz - F.A.O

L'Agronomie Tropicale 1962 T. XVII N° 1 pp. 75-92
- 3 - ASPLIN.F.D and R.B.A. CARNAGHAN
The toxicity of certain groundnut meals for poultry with special
reference to their effect on ducklings and chickens.
Vet. Rec. 1961. Vol. 73 p. 1215.
- 4 - AUSTWICK P.K.C.
Examen mycologique des grains d'arachide
Central Veterinary Laboratory Weybridge London.
- 5 -
5 - BLOUNT W.P.
J. Brit. Turkey. Fed. 9 . (2). 52. 1961.
- 6 - BRAS.G.
Nutritional Aspects of cirrhosis and carcinoma of the liver.
Fed. Proceed. March. 1961 Vol 20 N° 1 Part III Suppl N° 7
pp. 352-360. Report of the Vème International congress of nutrition
Washington; September 1960.
- 7 - CARNAGHAN.R.B.A and SARGEANT.K.
The toxicity of certain groundnut meal to poultry.
Vet. Rec. vol 73 N° 29 pp. 726-727.
- 8 - CLINTON .
Emp. J. Exp. Agric. 1960. 28. N° 111 p. 211.
- 9 - DUPIN.H., TOURY.J., GIORGI.R., RICHIR. Cl., QUENUM?C.WANE.A. et CROS.J.
Hepato-tome survenu chez un rat whistar soumis à un régime contenant
de l'Aflatoxine. A parâitre.

- 10 - GRAY.W.V
Groundnut Toxicity
Vet. Rec. Vol 73.1961. p. 865

- 11 - HUEPER.W.C., PAYNE.W.W.
Epidémie d'Hépatomes chez les poissons d'élevage.
J. Mal. Canc. Inst. Vol 27. 1961. pp. 1123-1143.

- 12 - LANCASTER.M.C., JENKINS.F.P., PHILIP Mcl. J.
Toxicity associated with certain samples of groundnuts.
Nature. 1961. 192 . N° 4.807 . pp. 1095-1097.

- 13 - LE BRETON.E., FRAYSSINET.C., BOY.J.
Sur l'apparition d'hépatomes "spontanés" chez le rat Whistar. Rôle de la
toxine de l'Aspergillus Flavus. Intérêt en pathologie humaine et en
Cancérologie expérimentale.
C.R. Académie des Sciences.

- 14 - LE BRETON.E.

Bull. Assoc. Franç. Canc. (à paraître)

- 15 - LOSSMORE.R.M. and MARKSON.L.M.
Poisoning of cattle by Brazilian groundnut meal.
Vet. Rec. 1961. vol. 73 N° 33. pp. 813-814

- 16 - LOSSMORE.R.M. and HARDING.J.D.J.
A toxic factor in Brazilian Groundnut causing liver damage in pigs.
Vet. Rec. 1961. Vol 73. N° 49. pp. 1362-1364.

- 17 - NINARD.B. et HINTERMANN.J.
Les tumeurs de la travée hépatique chez le porc au Maroc de 1944 à 1946
Bull. de l'Institut. d'Hygiène du Maroc
Nouvelle Série Tome V Année 1945. pp. 49-57

- 18 - NUTRITION REVIEWS
Vol XX N° 6.1962. pp. 174-176.

- 19 - SARGEANT.K., ALLCROFT.R., CARNAGHAN.R.B.A.
Groundnut Toxicity.
Vet. Rec. 1961. Vol 73. p. 865

- 20 - SARGEANT.K., O'KELLY.J., CARNAGHAN.R.B.A., and ALLCROFT.R.
The assay of a toxic principle in certain groundnut meals.
Vet. Rec. 1961. Vol 73. p. 1219.

- 21 - SARGEANT.K., SHERIDAN.A., O'KELLY.J., CARNAGHAN.R.B.A
Toxicity associated with certain samples of groundnuts
Nature . 1961. Vol. 192 p. 1096.
a
- 22 - SCHOENTAL.R.
Liver lesions in young rats suckled by mothers treated with the
pyrrolizidine (Senecio) Alkaloids, lasiocarpine et Retrorsine.
- 23 - TOURY.J.
Note concernant la toxicity de certains lots d'arachides.
1962. O.R.A.N.A. Ronée 7 p.
- 24 - T.P.I. Report N° 25/62
- 25 - T.P.I. Report N° 30/62
A method for the detection of Aflatoxine in groundnuts and groundnut
products. 8 p.
- 26 - WILSON.
Phytopathology. 1947. Vol. 37 p. 24.