

Activité antifongique des extraits de *Allium sativum* sur les moisissures

Barhege Bashombe Polycarpe

Laboratoire de Biologie, ISP, Bukavu, RD Congo

Copyright © 2018 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: The present study has been conducted in the biology laboratory of Bukavu Teacher Training College (Institut Supérieur Pédagogique de Bukavu), in the Democratic Republic of the Congo. It is intended to check the assumed antifungal properties of *Allium sativum* extracts, given that its commonplace use in the fight against human mycoses. Therefore, various aqueous extract concentrations of the above mentioned species have been tested on the air mold cultivated on Sabouraud agar to get reliable scientific data. The results showed that these extracts inhibit altogether the development of molds from 50% mass concentration. These antifungal properties proved experimentally would be taken advantage of to take up the main challenge related to the prevalence of several cases of mycoses, the rarefaction of antifungal products, and the destruction of farm products by fungi and their infection by mycotoxins.

KEYWORDS: *Allium sativum*, mycoses, mycotoxins, molds.

RÉSUMÉ: Cette étude a été menée au laboratoire de biologie de l'Institut Supérieur Pédagogique de Bukavu, en République Démocratique du Congo, afin de vérifier les propriétés antifongiques présumées des extraits de *Allium sativum*, étant donné son usage vulgaire dans la lutte contre certaines mycoses humaines. Pour ce faire, différentes concentrations des extraits aqueux de l'espèce précitée ont été testées sur les moisissures de l'air, cultivées sur la gélose de Sabouraud, pour obtenir des données scientifiques fiables. Les résultats obtenus ont démontré que ces extraits inhibent complètement le développement des moisissures à partir de 50% de concentration en masse. Ces propriétés antifongiques expérimentalement prouvées pourraient être mises à profit pour relever le défi majeur relatif à la prévalence de plusieurs cas de mycoses, la raréfaction des produits antifongiques, la destruction des produits agricoles par les champignons et leur contamination par des mycotoxines.

MOTS-CLEFS: *Allium sativum*, mycoses, mycotoxines, moisissures.

1 INTRODUCTION

Les moisissures sont des champignons filamenteux qui jouent un rôle important dans la dégradation des matières organiques en tant que saprophytes. Elles ne se développent pas sur des matériaux secs car elles ont besoin d'eau et prolifèrent davantage dans les pièces peu ventilées. On observe une augmentation des grains de moisissures lorsque le temps est chaud(11).

L'homme exploite à son profit des espèces utiles pour la fabrication et la conservation de produits alimentaires, pour la synthèse de nombreux métabolites (acides organiques, vitamines, polysaccharides, antibiotiques, alcaloïdes, immunodépresseurs, enzymes), la biotransformation des stéroïdes, la préparation commerciale de certaines substances anesthésiques, d'agents contraceptifs, d'alcools industriels, d'attendrisseurs de viande et du colorant jaune ajouté à la margarine et aux substrats du beurre (3).

Bien que certaines espèces de champignons présentent un intérêt réel pour l'homme, nombreuses autres sont cependant responsables de plusieurs préjudices. Ils peuvent en effet contaminer les substrats les plus divers comme les céréales, les produits d'origine animale et végétale (lait, viande, légumes, fruits), le papier, les tissus, où ils trouvent une source de carbone

et d'azote accessible. Aussi, leurs activités génèrent une pollution de l'air et d'aliments à travers les composés organiques volatils (COV) qu'elles produisent lors de leur développement qui sont notamment responsables de l'odeur de moisi. D'autres produisent des spores parfois allergènes responsables d'irritations des muqueuses(3,10).

Les micromycètes jouent un grand rôle dans la santé et l'économie mondiale étant donné le large spectre des maladies qu'ils déterminent (mycoses), allant du simple préjudice esthétique à l'infection généralisée potentiellement mortelle (4)

L'intoxication des aliments par des mycotoxines est l'un des préjudices majeurs causés à l'homme par les moisissures. Il s'agit en effet des métabolites secondaires sécrétés par ces champignons appartenant principalement aux genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*. En sécurité alimentaire, on en distingue six familles qui, si elles sont présentes dans l'alimentation à des doses suffisantes, peuvent faire courir des risques aux consommateurs. Ce sont les ochratoxines, les trichothécènes, la patuline, la zéaralénone, les aflatoxines, les fumonisines. Ces deux derniers types, sécrétés respectivement par *Aspergillus flavus* et *Fusarium moniliforme* sont particulièrement dangereuses, notamment pour leurs effets cancérogènes(14).

Certaines mycotoxines provoquent la formation d'adduit à l'ADN, la peroxydation lipidique, l'induction de l'apoptose sur progéniteur hématopoïétique, l'altération des immunoglobulines etc. D'autres inhibent la production d'ADN par la cellule et la synthèse de céramide, d'autres encore altèrent le cycle cellulaire et impactent négativement sur la synthèse des protéines(16).

En médecine comme en agriculture, la résistance des champignons pathogènes aux antifongiques devient un problème de plus en plus inquiétant qu'une lutte préventive couteuse s'avère nécessaire pour maîtriser les maladies fongiques(2). D'autre part, les produits antifongiques disponibles en médecine sont peu nombreux au point que la recherche de nouveaux composés est devenue cruciale pour envisager de nouveaux traitements efficaces, de limiter les problèmes de résistance actuels et de parer au manque de produits antifongiques. Cette résistance des champignons est devenue si préoccupante qu'il devient important de trouver de nouvelles sources de fongicides. (9).

Par ailleurs, la plupart des antifongiques coûtent cher et sont par conséquent non accessibles à toutes les bourses. D'autres sont toxiques et peuvent induire la production de cytokines, et dans certains cas on ne peut pas utiliser les fongicides chimiques contre les champignons pour des raisons de sécurité et de protection de l'environnement (6,7). A titre d'exemple, les antifongiques oraux tels Daktarin, Nizoral, Triflucan, sont toxiques pour le foie et formellement contre-indiqués chez la femme enceinte (15).

Au vue des difficultés ci-haut évoquées, le test d'activité antifongique des extraits de *Allium sativum* sur les moisissures vaut son pesant d'or, étant donné son prix abordable et son caractère non toxique pour la santé, étant utilisé par ailleurs comme condiment.

A Bukavu et dans ses environs, certaines personnes affirment employer les gousses de *Allium sativum* pour soigner vulgairement la teigne tondante et la candidose mais aucune étude scientifique n'a été menée pour pourvoir à la société nécessiteuse des connaissances approfondies quant à ce. C'est dans cet objectif que ce travail a été initié, en vue d'évaluer, non seulement les propriétés antifongiques présumées de ces extraits sur les moisissures, mais aussi pour déterminer avec plus de précision les concentrations susceptibles d'agir efficacement pour empêcher le développement de ces micromycètes.

2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 MATÉRIEL

2.1.1 LE MILIEU DE SABOURAUD (8)

La gélose de Sabouraud constitue un milieu classique pour la culture des champignons pathogènes associés aux infections cutanées, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes, le contrôle de stérilité des produits pharmaceutiques, cosmétiques ou alimentaires. Elle favorise la culture des champignons microscopiques grâce à son pH relativement acide mais son chauffage excessif conduit à la dénaturation de l'agar dans un pH acide et par conséquent à l'obtention d'un milieu trop mou. Sa composition en grammes par litre d'eau distillée est la suivante :

Peptone: 10g

Glucose: 20g

Agar-agar: 15g

Vitamines et facteurs de croissance

pH : 6,0

L'incubation est recommandée entre 25 et 30°C pendant 3 à 5 jours. La présence de la peptone et du glucose favorise le développement des souches fongiques, et le pH de la gélose, légèrement acide, favorise la croissance des champignons par rapport à celle des bactéries. Le milieu neuf stérile est transparent, brillant et légèrement jaune pâle. Après incubation, les thalles des moisissures sont expansifs, formés d'un mycélium duveteux et blanc. La lecture intervient après plusieurs jours pour les champignons filamenteux. Pour un dénombrement, l'incubation dure 5 jours à 25°C. Un premier comptage est pratiqué au 3ème jour, vérifié au 4ème puis au 5ème jour.

2.1.2 MATÉRIEL VÉGÉTALE(17)

DESCRIPTION

L'ail (*Allium sativum*) était acheté auprès des femmes vendeuses au marché central de Bukavu. C'est une plante potagère, herbacée, vivace, à nombreuses feuilles engainant le bas de la tige, monocotylédone dont les bulbes à l'odeur et au goût forts sont souvent employés comme condiment en cuisine. Elle mesure 5 à 12 cm de hauteur. Les fleurs sont groupées en ombelles et le fruit est une capsule à 3 loges. La multiplication végétative est plutôt la règle par le biais des bulbes formés à la base de la tige.

CLASSIFICATION (SELON CRONQUIST, 1981)

Règne	: <i>Plantae</i>
Sous-règne	: <i>Tracheobionta</i>
Division	: <i>Magnoliophyta</i>
Classe	: <i>Liliopsida</i>
Sous-classe	: <i>Liliidae</i>
Ordre	: <i>Liliales</i>
Famille	: <i>Liliaceae</i>
Genre	: <i>Allium</i>
Espèce	: <i>Allium sativum</i>

2.2 MÉTHODES

2.2.1 EXTRACTION DU PRINCIPE ACTIF ET PRÉPARATION DU MILIEU DE CULTURE

Pour extraire le principe actif, 100g de gousses de *Allium sativum* (*Alliaceae*), bien épluchées étaient pesés au moyen d'une balance de précision 0,001g près, puis moulus à l'aide d'une machine de marque NOVA NM-72BG dans 100ml d'eau distillée stérile. A la fin de la mouture, un complément de 900 ml d'eau distillée était ajouté à la bouillie obtenue. Celle-ci était ensuite versée dans un béccher de 2000ml pour une macération pendant 24 heures. Au bout de cette macération, la filtration était faite au moyen d'une couche d'ouate hydrophile placée sur un entonnoir et les extraits aqueux totaux étaient recueillis dans un autre béccher. Des volumes appropriés de ce liquide fondamental était chaque fois prélevés pour en préparer des solutions aqueuses respectives de 90ml, à 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60% dans différents bécchers. La préparation du milieu de culture était quant à elle faite en diluant chaque fois 58,5g de milieu de Sabouraud dans chacune des solutions ainsi préparées. Toutes les solutions étaient enfin chauffées, l'une après l'autre, sur une plaque chauffante et constamment agitées pendant toute la durée du chauffage pour s'assurer de la dilution totale du milieu de culture. Après ébullition, chaque milieu de culture était équitablement coulé dans trois boîtes de Pétri en formant des triplicats.

2.2.2 ENSEMENCEMENT ET INCUBATION

Au moyen d'une pince, une touffe de moisissures était prélevée sur une pulpe d'avocat mur colonisée par ces champignons, trouvée dans une poubelle où les étudiants de l'ISP/BUKAVU sont autorisés de jeter toute sorte d'immondice. Cet échantillon était ensuite introduit dans 100 ml d'eau distillée contenue dans un béccher. Pour une bonne dispersion des spores fongiques dans l'eau, le béccher était secoué pendant trois minutes avant d'en retirer soigneusement tous les mycéliums pour ne rester qu'avec les spores en suspension dans l'eau. Une micropipette automatique de marque Accumax 6K 387009 CE 10-100µl était

utilisée pour en prélever chaque fois 100µl d'inoculum qui était étalé à la surface du milieu de culture contenu dans les différentes boîtes de Pétri. Toutes les boîtes étaient disposées en formant une rangée de 6 séries de trois boîtes chacune selon chaque degré de concentration. Une 7^{ème} série de trois autres boîtes de Pétri contenant le même milieu de culture préparé dans les mêmes conditions mais exempt des extraits de *Allium sativum* était préparée pour servir de témoin (0%). Pour s'assurer d'obtenir des espèces diversifiées de moisissures, toutes les boîtes de Pétri étaient en plus ouvertes et exposées sur une table, à l'air libre, au laboratoire central de biologie, pendant toute la durée de l'incubation en vue d'intercepter d'autres spores aéroportées. Après quatre jours d'incubation, les résultats ci-dessous tels que présentés sur la photo n°1 capturée par un appareil photographique numérique digital de marque OLYMPUS 4X avaient été obtenus.

3 PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

Les résultats obtenus par rapport aux effets des différentes concentrations des extraits de *Allium sativum* sur le développement des moisissures sont illustrés par la figure 1 ci-dessous.

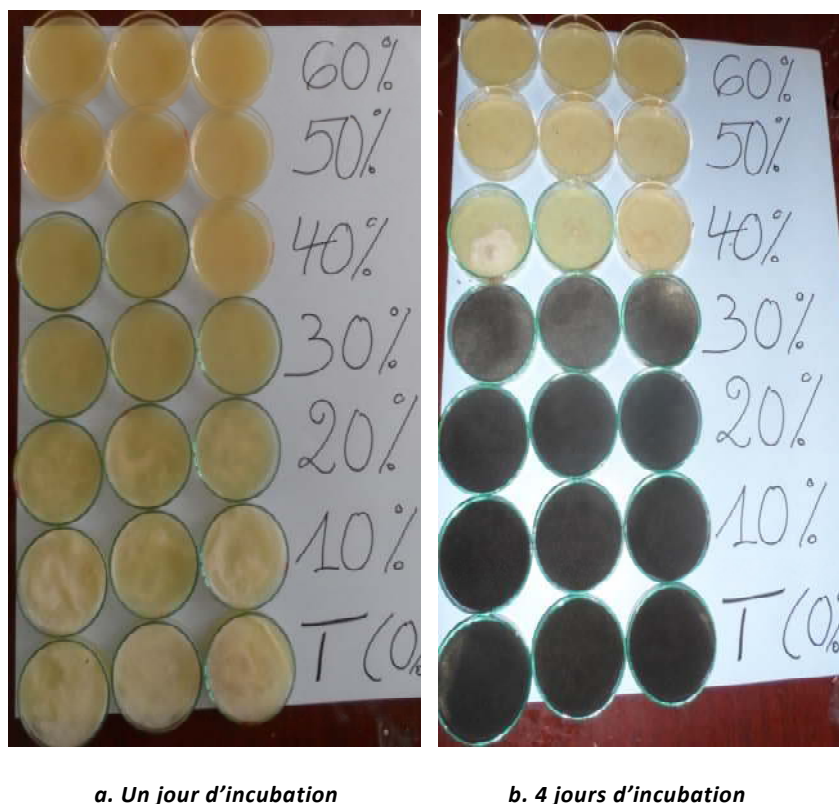


Fig. 1. Effets des extraits de *Allium sativum* sur le développement des moisissures

La figure ci-dessus(a) montre qu'à un jour d'incubation à la température ambiante, quelques mycéliums blancs, d'aspect duveteux sont déjà visibles dans les boîtes témoins et dans celles qui correspondent aux concentrations 10% et 20%. Ces tout premiers résultats obtenus ont servi de référence pour une comparaison à ceux enregistrés après 4 jours d'incubation sur la même figure(b).

Il ressort de cette figure(b) que le développement maximal est observé dans le témoin (0%) et dans les boîtes de Pétri contenant le milieu de culture à 10%, 20% et 30% de concentration des extraits de *Allium sativum*. A 40%, les quelques spores qui ont germé n'ont produit que quelques mycéliums dont certains n'ont pas atteint la maturité, sans formation de sporanges et dont la couleur blanche originelle est restée inchangée tel que l'observation au microscope optique de marque NIKON/JAPAN 220219, grossissement 400x l'a révélé après quatre jours d'incubation. A partir de 50%, les moisissures ont été complètement inhibées par les extraits de *Allium sativum*. Cette valeur au-dessus de laquelle aucune trace de moisissures n'a été observée dans les boîtes de Pétri représente la concentration minimale inhibitrice par rapport aux différents degrés de concentration des extraits testés sur le développement des moisissures.

3.1 IDENTIFICATION DES MOISSURES (5)

L'identification a porté sur les moisissures des boîtes de Pétri témoins dans lesquelles il n'y a eu aucun facteur limitant pour leur développement, étant donné l'absence des extraits de *Allium sativum*.

L'identification des champignons filamenteux en routine repose essentiellement sur l'analyse des caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques. Pour ce faire, les clés d'identification de Gerderman et Berger ont été utilisées et un microscope optique de marque NIKON/JAPAN 220219, grossissement 400x. Les moisissures identifiées appartenaient essentiellement au genre *Aspergillus*.

3.1.1 CLASSE DES ASCOMYCÈTES

- Appareil végétatif constitué d'un thalle à mycélium septé avec des filaments étroits divisés par des cloisons en articles, caractéristiques des Ascomycètes, Basidiomycètes et Deutéromycètes (Badilet et al, 1987 in Tabuc, 2007).
- Présence d'une structure caractéristique appelée asque renfermant des ascospores

3.1.2 GENRE *ASPERGILLUS*

- Croissance rapide sur les milieux de culture classiques (gélose ou malt, Sabouraud), entre 22 et 25°C.
- Colonies plates avec de courts filaments aériens, blancs, après 48 heures d'incubation. Elles prennent leur teinte caractéristique noire ou blanche après 96 heures, selon les espèces.
- Thalle formé de filaments mycéliens hyalins, de diamètre fin et régulier, septés et ramifiés.
- Sur les filaments végétatifs prennent naissance des filaments dressés, non cloisonnés (conidiophores) qui se terminent par une vésicule de forme variable sur laquelle sont disposées les cellules conidiogènes ou phialides
- Phialides directement insérées sur la vésicule (têtes unisériées) ou portées par de petites structures insérées sur la vésicule (têtes bisériées) nommées métules ou stérigmates
- L'ensemble formé par la vésicule, les métules, les phialides et les conidies constitue la tête aspergillaire caractéristique du genre *Aspergillus*.
- Les spores sont exogènes (conidies), unicellulaires et de petite taille (amérospores) caractéristiques des genres *Aspergillus* et *Penicillium*
- Les cellules conidiogènes sont regroupées à l'extrémité dilatée du conidiophore dressée, formant une tête caractéristique du genre *Aspergillus* (Raper et Fennell, 1965 in Tabuc, 2007).

La figure ci-dessous illustre les principaux caractères morphologiques des champignons du genre *Aspergillus*

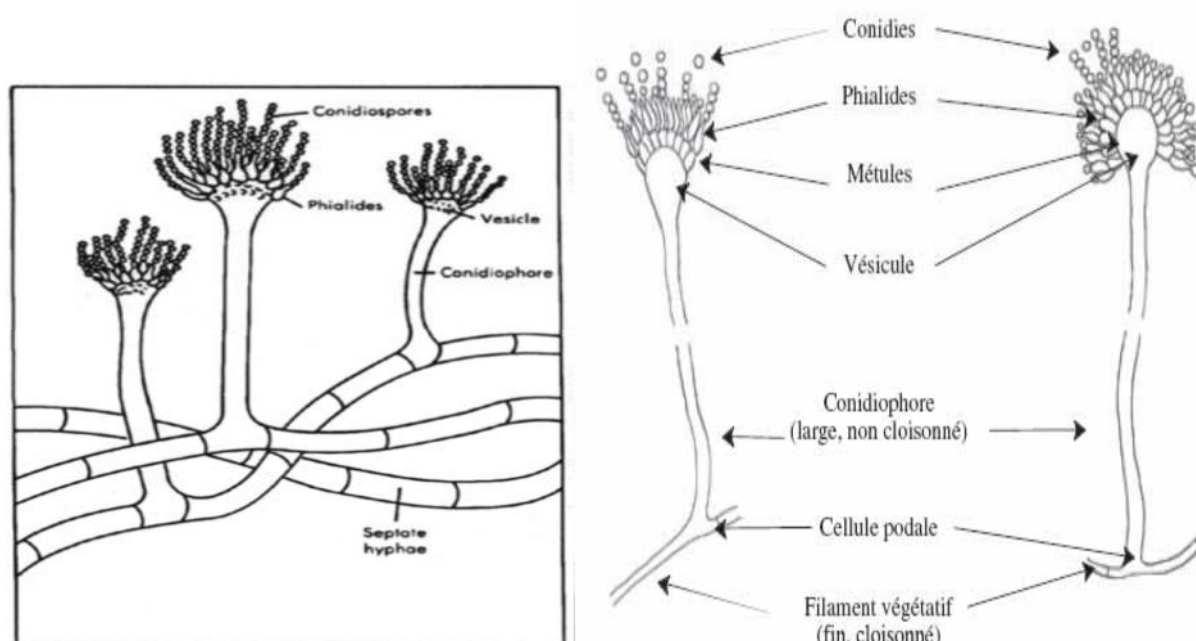


Fig. 2. Principaux caractères morphologiques des *Aspergillus*.

4 DISCUSSION DES RÉSULTATS

Conformément à la figure 1(a), la majorité de boîtes de Pétri sont encore dépourvues de moisissures à un jour d'incubation, sauf pour le témoin et les boîtes dont les milieux de culture sont moins concentrés. Après quatre jours, comme le montre la même figure (b), on observe un développement spectaculaire des moisissures dont les colonies sont plus denses et plus foncées dans les témoins et dans les boîtes à faibles concentrations des extraits de *Allium sativum*.

L'activité antifongique des extraits sur les moisissures est nulle dans les témoins où les moisissures n'auraient été soumises à aucun effet inhibiteur, elle est presque nulle à 10%, 20% et 30%. A des concentrations supérieures ou égales à 50%, aucun filament de moisissures n'est visible dans les boîtes de Pétri à l'exception de quelques colonies de levures jusqu'à 50%, ce qui semble s'accorder avec certains auteurs qui affirment que les levures apparaissent souvent plus résistantes que les autres champignons (2).

A partir de 50%, les boîtes de Pétri n'ont plus révélé une moindre trace de moisissures, à cause de l'activité antifongique des extraits qui aurait empêché la germination des spores et le développement des moisissures. Les présentes expériences ont rendu compte du caractère thermorésistant du principe actif de *Allium sativum*, étant donné que le chauffage des extraits n'a point limité leurs effets antifongiques sur les moisissures.

Bien qu'il ait été difficile de préciser la structure ou la fonction cellulaire inhibée par le principe actif contenu dans les extraits, faute d'équipement adéquat, certaines spéculations peuvent cependant être envisagées par rapport aux cibles classiques des antifongiques courants.

En effet, les antifongiques agissent principalement au niveau de la membrane cellulaire des champignons. En la perforant, ils rompent l'intégrité de la cellule et entraînent sa mort. La paroi cellulaire est la principale cible des Echinocandines, des Azolés et des Polyènes qui bloquent la synthèse et l'incorporation de l'ergostérol.

Les antifongiques agissent fréquemment par extraction des stérols membranaires, ou par inhibition de la synthèse de ceux-ci. La chitine synthétase est la cible d'antifongiques efficaces comme la polyoxine D et la mikomycine. Les trois dérivés de l'imidazole, à savoir le miconazole, le cétoconazole et le clotrimazole perturbent la perméabilité de la membrane fongique et inhibent la synthèse des stérols. D'autres antifongiques peuvent se fixer à l'ergostérol et former des pores conduisant à une altération de la perméabilité sélective aux K^+ et Mg^{2+} . Ils inhibent la synthèse de l'ergostérol par blocage de la diméthylation (14-diméthylase) du lanostérol. La caspofungine, composé cyclique de grande taille, empêche la synthèse de 1,3-b-D-glucan nécessaire à la polymérisation de la paroi. La flucytosine agit par interruption de la biosynthèse des acides nucléiques. La nystatine se fixe aux membranes de certains mycètes et en modifie la perméabilité, il s'en suit une perte d'ions qui provoque la mort du mycète. Les échinocandines et les pneumocandines donnent des dérivés fongicides inhibant la synthèse des glycanes de la paroi ; les mikomycines inhibent la synthèse de chitine ; les pradimicines forment des complexes avec les polysaccharides de mannane de la paroi fongique, provoquant ainsi une altération du plasmaleme (1, 2, 3, 12, 13).

La griséofulvine semble perturber, quant à elle, le fuseau mitotique et inhiber la division cellulaire ; elle peut également entraver la synthèse des protéines et des acides nucléiques(3). Les sulfamides empêchent la formation d'acide folique nécessaire à la synthèse des purines ; d'autres composés tels que la cycloheximide et la puromycine bloquent la synthèse des protéines (1, 3).

Les dérivés de l'acide carbarique et des benzimidazoles (carbamates), une fois absorbés, se transforment en carbendazime qui est un antiméiotique. Ils bloquent la division cellulaire et nucléaire (mitose) en perturbant la formation et le fonctionnement du fuseau achromatique. En plus, cette molécule se substitue aux bases puriques (adénine et guanine) des acides nucléiques et provoquent des erreurs dans la transcription du génome. Les systémiques inhibitrices de la synthèse des stérols provoquent l'inhibition d'enzymes impliqués dans la synthèse des stérols, entraînant une perturbation du fonctionnement et de la formation des membranes cellulaires des champignons (9).

Il existe une multitude de modes d'actions qui bloquent ou affectent l'organisme des germes pathogènes. La respiration mitochondriale, la synthèse des stérols et des acides aminés, la division cellulaire sont souvent affectées par les fongicides (9).

5 CONCLUSION

Ce travail a été réalisé à l'Institut Supérieur Pédagogique de Bukavu, afin de tester les effets inhibiteurs présumés des extraits de *Allium sativum* sur le développement des moisissures de l'air.

Différentes dilutions de ces extraits ont été préparées pour servir de solvant au milieu de Sabouraud, spécifique au développement des champignons. Après inoculation des milieux de culture préparés et coulés dans toutes les boîtes de Pétri,

celles-ci avaient été en plus exposées, ouvertes, à l'air libre pour intercepter une plus grande diversité de spores. Selon l'échelle des concentrations testées, les résultats obtenus établissent que ces extraits inhibent totalement le développement des moisissures aéroportées à partir de 50%.

Ces propriétés antifongiques expérimentalement démontrées pourraient être mises à profit dans la lutte contre certaines maladies dues aux champignons, les mycoses humaines et animales notamment, les maladies cryptogamiques, mais aussi dans la conservation des aliments à l'abri des mycotoxines dont certaines sont particulièrement redoutables pour la santé humaine et animale.

Cette étude constitue une ébauche qui pourrait ouvrir la voie à des recherches postérieures plus approfondies afin de rendre compte des effets antifongiques des extraits de *Allium sativum* sur des espèces fongiques spécifiques. Aussi, la caractérisation non équivoque du mécanisme d'action de ces extraits par rapport à la fonction ou à la structure cellulaire cible, l'isolement et la détermination de la structure chimique du principe actif contenu dans ces extraits, la perspective de sa synthèse artificielle feraient l'objet des recherches ultérieures.

REFERENCES

- [1] Karem A., Pamela S. C. (1988), *Biologie Tome I*, De Boeck-Wesmael, Bruxelles
- [2] Larpent J.P., Gourgaud M.L. (1997), *Mémento technique de microbiologie*, 3^e édition, Paris
- [3] Prescott, Harley (1995), *Microbiologie*, De Boeck-Wesmael, Bruxelles
- [4] Schaechter (1999), *Microbiologie et pathologies infectieuses*, De Boeck, Bruxelles- Paris
- [5] Tabuc C., (2007), *Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines*, Thèse, Institut National Polytechnique de Toulouse et de l'Université de Bucarest.
- [6] Tortora G.J, Funke B.R, Case C.L.(2003), *Introduction à la microbiologie*, Saint- Laurent(Québec)
- [7] http://www.google.rw/url?q=http://www.doctissimo.fr/html/dossiers/mst/sa_425_antifongiques.htm&sa=U&ei=UBYSUcbTB4xhAea_YGQDw&ved=0CBQQFjAA&usg=AFQjCNH5slgdI6YpM-jDwD6UvAFJB5n2Qw
- [8] <http://fr.wikipedia.org/wiki/>
- [9] <http://www.google.com/url>
- [10] <http://fr.wikipedia.org/wiki/Moisissure>,
- [11] <http://www.google.fr/19/08/2013>
- [12] <http://www.doctissimo.fr/antifongiques.htm>
- [13] <http://www.google.rw/url>
- [14] <http://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&ved=0CC0QFjAA&url=http%3A%2F%2Fesmisab.univbrest.fr%2Fscientifique%2Fmycologie%2Fmycotoxines&ei=6s4WU5SnIsLNygPsqlHABA&usg=AFQjCNEc5ucyAlgMbQnU1w6shUHViuFM1g>
- [15] <http://fr.wikipedia.org/wiki/Moisissure>
- [16] [https://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&ved=0ahUKEwiUypKsmYrTAhVJlxQKHebfBUgQFggwMAM&url=https%3A%2F%2Fwww.anses.fr%2Ffr%2Fsystem%2Ffiles%2FRCCP-Ra-Mycotoxines.pdf&usg=AFQjCNHdOf6-w4YOdcBYdvMEzloMfBYN9Q&bvm=bv.151426398,d.d24&cad=rja\(04/04/2017\)](https://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&ved=0ahUKEwiUypKsmYrTAhVJlxQKHebfBUgQFggwMAM&url=https%3A%2F%2Fwww.anses.fr%2Ffr%2Fsystem%2Ffiles%2FRCCP-Ra-Mycotoxines.pdf&usg=AFQjCNHdOf6-w4YOdcBYdvMEzloMfBYN9Q&bvm=bv.151426398,d.d24&cad=rja(04/04/2017))