

Contamination Des Laits Importés Au Mali Par L'aflatoxine M1

[Contamination Of Milk Imported Into Mali By Aflatoxin M1]

TRAORE A ^{1*}, TOURE H ¹, BARRY A ², DIARRA D ¹.

¹.Institut National de Santé Publique (INSP), Bp: Bamako, Mali;

².Institut des Sciences Appliquées (ISA), Bamako, Mali.

*(223)73014676,

*Email : adambtraore@yahoo.fr



Résumé – Au Mali l'insuffisance de données scientifiques sur la contamination du lait par les aflatoxines a motivé la conduite de la présente étude. Les aflatoxines sont des métabolites secondaires synthétisés par des souches d'*As. flavus*, *Asp. Parasiticus* et *Asp. Nomius*. *Aspergillus flavus* produit principalement l'Aflatoxine B1 et B2. AFM1 est retrouvée dans le lait des mammifères lorsque ceux-ci ont ingéré des aliments contaminés par l'Aflatoxine B1. L'hépatotoxicité est la caractéristique majeure de l'aflatoxine B1. AFM1 est reclassée par l'Agence Internationale pour la Recherche sur le Cancer de l'Organisation Mondiale de la Santé pour être dans le groupe 1 au lieu du groupe 2 considéré moins toxique. Contribuer à la connaissance de la qualité sanitaire du lait importé au Mali et conduire une évaluation des risques liés à l'Aflatoxine M1. Etude transversale et descriptive par sondage aléatoire simple. Un total de 150 échantillons de laits a été récolté dans le District de Bamako en 2015.

La détermination des teneurs du lait en Aflatoxine M1 a été effectuée par Immunoaffinité /HPLC INF selon la norme ISO 14501 au CARSO-Laboratoire Santé Environnement Hygiène de Lyon en 2016. Les résultats ont montré que tous les 150 échantillons analysés sont contaminés par l'Aflatoxine M1 avec des taux allant de 30 à 100 ng/Kg. Cependant les taux de contamination étaient inférieures à la norme requise par le Codex Alimentarius qui est de l'ordre de 500ng/Kg. Les acteurs impliqués dans la sécurité sanitaire des aliments aux Mali sont interpellés pour prise de disposition.

Mots clés – Recherche, Aflatoxine M1, Laits importés, Mali.

Abstract – In Mali, the lack of scientific data on the contamination of milk by aflatoxins motivated the conduct of this study. Aflatoxins are secondary metabolites synthesized by strains of *As. flavus*, *Asp. Parasiticus* and *Asp. Nomius*. *Aspergillus flavus* mainly produces Aflatoxin B1 and B2. AFM1 is found in the milk of mammals when they have ingested food contaminated with Aflatoxin B1. Hepatotoxicity is the major characteristic of aflatoxin B1. AFM1 is reclassified by the International Agency for Research on Cancer of the World Health Organization to be in group 1 instead of group 2 considered less toxic. Contribute to knowledge of the sanitary quality of milk imported into Mali and conduct a risk assessment related to Aflatoxin M1. Cross-sectional and descriptive study by simple random sampling. In Mali, insufficient scientific data on the contamination of food in general and milk in particular aflatoxins motivated the conduct of this study. In this work, we looked for Aflatoxin M1 in imports milks into Mali.

A total of 150 milk samples (18 from importers, 66 from semi-wholesalers, 66 from retailers) were harvested in Bamako district. The determination of aflatoxin M1 content of milk was carried out by Immunoaffinity / INF HPLC in accordance with ISO 14501 at the CARSO-Laboratory Health Environment Hygiene of Lyon in 2016.

The results showed that all 150 samples analyzed are contaminated with Aflatoxin M1 with rates ranging from 30 to 100 ng/kg. However, the contamination rate of the particulate samples, which varied from 30 to 100 ng/kg, was below the limit set by the Codex Alimentarius, which is 500 ng/kg.

The actors involved in food safety in Mali are called upon to make arrangements.

Keywords – Research, contamination, Aflatoxin M1, Imported, milk, Mali.

I. INTRODUCTION

L'aflatoxine est une mycotoxine produite par certains champignons proliférant notamment sur des produits conservés en atmosphère chaude et humide le plus souvent produites par le microchampignon *Aspergillus flavus*.

L'aflatoxine est un danger sanitaire d'origine biologique. Dès le moyen âge, les chroniques décrivent les effets mortels de l'ergot du seigle dont l'agent causal *Claviceps purpurea* est responsable de l'élaboration d'une toxine mortelle : l'ergotamine. Ensuite, des études ont permis d'isoler, du maïs contaminé par *Penicillium* de l'Acide Pénicillique la première mycotoxine identifiée.

En 1960 en Angleterre, l'ingestion de farines d'arachide importées du Brésil et contaminées par *Aspergillus flavus* a entraîné la mort brutale d'une centaine de milliers de dindonneaux, après l'apparition des premiers symptômes (perte de l'appétit, faiblesse des ailes et léthargie). Cet événement dénommé « Turkey-X-Disease » a donné le départ d'une série d'études et de recherches physicochimiques et toxicologiques sur les substances actives élaborées par les moisissures responsables.

Ainsi, en 1960, le nom Aflatoxine a été attribué à cette nouvelle matière toxique produite par les champignons de la famille d'*Aspergillus*. Les aflatoxines sont des métabolites secondaires synthétisés par des souches d'*As. flavus*, *Asp. Parasiticus* et *Asp. Nomius* [1]. *Aspergillus flavus* produit principalement l'Aflatoxine B1 et B2 [2]. Le lait peut être source d'aflatoxine M1.

En effet, celle-ci est retrouvée dans le lait des mammifères lorsque ceux-ci ont ingéré des aliments contaminés par l'Aflatoxine B1 [3].

L'hépatotoxicité est la caractéristique majeure de l'aflatoxine B1 [4].

Les aflatoxines sont thermostables peu sensibles aux transformations thermiques des aliments (stérilisation, pasteurisation, congélation) ou de séchage (déshydratation, lyophilisation) à l'exception de la torréfaction. Les aflatoxines se développent plus favorablement pour l'activité de l'eau (A_w) assez faible (0,84-0,86) et une température élevée entre 25°C et 40°C [5].

La capacité à se lier aux protéines plasmatiques et leur lipophilie en font des toxines capables de persister dans l'organisme en cas d'expositions répétées et rapprochées [6].

L'AFM1 est reclassée par l'Agence Internationale pour la Recherche sur le Cancer (CIRC) de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour être dans le groupe 1 (niveau le plus élevé de toxicité) au lieu du groupe 2 considéré moins toxique [7].

D'après Steyn (1998), les aflatoxines sont formées à partir des polyacétoacides selon un processus complexe, l'Ergotamine est formée à partir des peptides et des acides aminés. L'Ochratoxine A est biosynthétisée à partir de la Phénylalanine et le Dihydroisocoumarine. Les thricothécènes sont produites à partir du mévalonate [8].

Les aflatoxines peuvent contaminer toutes denrées alimentaires tant que les conditions de leur sécrétion sont réunies.

L'Aflatoxine B1 (AFB1) est la mycotoxine la plus dangereuse et la plus étudiée. Cependant, d'autres aflatoxines sont produites par les moisissures toxigènes notamment B2, G1 et G2 et les aflatoxines M. Celles-ci qui sont des dérivés respectives des aflatoxines B1 et B2, apparaissent dans le lait et ses dérivés. Les aflatoxines M1 et M2 tiennent leur appellation du fait de leur détection dans le lait "Milk" [9]. Il a été démontré que l'Aflatoxine M1 peut contaminer le lait maternel humain (El-Nezami et al. 1995 ; Galvano et al.1996) [10]. Chez les ruminants laitiers, le lait représente une voie mineure d'excrétion des mycotoxines. En effet, L'AFB1 absorbée par l'organisme, est essentiellement excrétée dans le lait sous sa forme hydroxylée : l'AFM1 et l'élimination de celle-ci par la glande mammaire des ruminants ne représentent que 0,1 à 2% de la dose ingérée par la vache laitière. Toutefois, les taux excrétés peuvent atteindre 6% de la dose ingérée chez la vache à haute production laitière. [11].

Des études faites par Witlow et Hagler W.M.J en 2001 et en 2010 ont montré que les aflatoxines ont un effet sur le gain de poids corporel chez les bovins de boucherie, qui suivent un régime alimentaire contenant 700 ppb d'aflatoxine et que ces dernières seraient considérées comme toxiques même à des concentrations aussi faibles que 100 ppb. La réduction du rythme de croissance peut être le seul indice d'une aflatoxicose ou d'une autre mycotoxicose chronique. Le mécanisme par lequel les aflatoxines ralentissent la croissance est probablement relié à des perturbations du métabolisme des protéines, des glucides et des lipides [12]. La santé des troupeaux laitiers ainsi que la production de lait peuvent donc être affectées par un régime alimentaire contaminé par les aflatoxines. C'est ainsi que la production de lait a été réduite quand des vaches laitières en lactation

consommaient un aliment contenant 120 ppb d'aflatoxine. Par la suite, la substitution de l'aliment contaminé par l'aflatoxine par un aliment exempt d'aflatoxine a entraîné l'augmentation de la production de lait de plus de 25% [13].

La toxicité chronique des aflatoxines peut apparaître aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Des études épidémiologiques menées dans le Sud-Est Asiatique et en Afrique ont démontré, que les cancers hépatiques sont beaucoup plus fréquents chez certains groupes de la population humaine dont le régime alimentaire est fortement contaminé par les aflatoxines [14].

Plus de 250 mille décès annuels sont recensés en Chine et en Afrique en 1999 Subsaharienne. Ces décès sont causés par des carcinomes hépatocellulaires attribués aux facteurs de risques comme l'ingestion journalière élevée en aflatoxines qui atteint 1,4 µg/kg et l'incidence du Virus de l'Hépatite B (VHB) [15].

L'Aflatoxine B1 est la plus toxique des aflatoxines et il est le plus fort cancérigène chimique naturel du foie connu. L'aflatoxine, métabolisé par les enzymes dans le foie, se complexifie avec les protéines et entraîne une toxicité aiguë (Aflatoxicose). L'exposition à l'aflatoxine est à la base de la destruction aiguë du foie et de la cirrhose du foie, ainsi que le développement de tumeurs ou d'autres effets génétiques. L'incidence du cancer du foie a augmenté et égalise les infections de l'Hépatite B chronique et l'hépatite C. Des études ont montré que les personnes victimes de l'infection à l'Hépatite B qui vivent avec l'exposition chronique aux aflatoxines ont un risque de contracter le cancer du foie 30 fois plus grand que les personnes qui sont séronégatives à l'Hépatite B.

L'aflatoxine est également liée au kwashiorkor, une maladie causée par la malnutrition protéino-énergétique. La kwashiorkor a certaines caractéristiques associées aux effets pathologiques provoquées par l'exposition aux aflatoxines chez les animaux, mais le lien entre l'exposition aux aflatoxines et la kwashiorkor n'est pas encore clairement établi. Malgré ces résultats préliminaires, les mécanismes par lesquels l'aflatoxine a un impact négatif sur la croissance sont actuellement inconnus et nécessitent des recherches plus avancées. Les taux de mortalité dus à la maladie du foie, qui sont élevés en Afrique, et surtout en ce qui concerne la malnutrition protéino-énergétique.

La virulence des aflatoxines chez des individus porteurs du VHB est nettement plus élevée sources [16]. En effet, l'AFB1 et le VHB peuvent agir en synergie, l'infection par le VHB induit les enzymes activatrices de l'aflatoxine en augmentant son pouvoir cancérigène potentiel [16].

Dans la cellule humaine, l'AFB1 n'est pas réactive ou mutagène par elle-même, mais elle peut être activée en un époxyde très électrophile qui peut former des adduits à l'ADN. Ces adduits génèrent une mutation qui se situe sur le codon 249 et qui pourra être le point de départ d'un processus de cancérogenèse hépatique. Des résultats in vivo ont montré que l'AFB1 provoque très fréquemment cette mutation [17].

Une fois dans l'organisme, l'AFB1 subit plusieurs réactions d'élimination à plusieurs niveaux. Ainsi, dans la cellule hépatique, l'aflatoxine est métabolisée par un arsenal enzymatique qui facilite son élimination par augmentation de ses propriétés hydrophiles [18].

Il existe plusieurs voies d'élimination de l'AFB1. Le processus d'hydroxylation qui constitue la principale voie. Elle conduit à la formation du dérivé hydroxylé de l'aflatoxine B1 qui est l'aflatoxine M1 [19].

L'élimination des aflatoxines de l'organisme inclut aussi l'excrétion urinaire (AFM1, AFP1, AFQ1, AFB1-N7- guanine), l'excrétion biliaire (AFB1-glutathione) et l'excrétion laitière sous forme d'AFM1 chez les mammifères. Cette dernière constitue la principale voie d'exposition des nourrissons [20].

Au Mali, l'importation annuelle de lait en poudre en provenance d'Europe est estimée à 450 000 tonnes dont 280 000 tonnes en sacs de 25 kg et 170 000 tonnes en petits conditionnements (sachets et boîtes). Le lait en poudre le plus vendu au monde est celui obtenu du lait de vache. Mais dans certaines régions, l'élevage de caprins est plus adapté, dans ces zones c'est le lait de cette espèce qui est transformé en poudre et est le plus vendu selon A. Franque ville (1993) [21].

Dans les pays en développement, l'excédent de lait de chèvre pourrait théoriquement aussi être réduit en poudre et mis en réserve pour si nécessaire lutter contre la malnutrition et favoriser l'augmentation des revenus des producteurs. Il présente l'avantage d'être transporté et conservé plus facilement. Mais, il faut aussi tenir compte du fait qu'en zone aride et semi-aride, les

chèvres peuvent faire de gros dégâts en s'alimentant dans les cultures, en montant dans les arbres bas ou en empêchant la reforestation par broutage des plants.

En 2017, la production mondiale de lait était estimée à 770 Millions de tonnes contre 728 millions de tonnes en 2011 [22].

Cette production est répartie comme suite :

- ✓ Union Européenne : 132 millions de litres, première région productrice de lait ;
- ✓ Inde : 99 millions de litres, premier pays producteur ;
- ✓ Amérique du Nord : 84 millions de litres ;
- ✓ Asie : 73 millions de litres (dont la Chine avec 35,7 millions de litres) ;
- ✓ Amérique du Sud : 50 millions de litres ;
- ✓ Océanie : 24,5 millions de litres ;
- ✓ Afrique : moins de 5 millions de litres.

Le lait de vache représente 83% de la production mondiale de lait. Le lait de bufflonne, avec plus de 80 millions de tonnes représente environ 12 % de la production mondiale. Il est suivi du lait : de chèvre 2%, de brebis 1 % et d'autres mammifères 0,2% [23].

Les trois premiers des 18 plus grands pays producteurs de lait au monde sont : l'Inde (152 millions de tonnes), les Etats-Unis (87,3 millions de tonnes) et la Chine (45,8 millions de tonnes). La France se trouve au cinquième rang (24,2 millions de tonnes) et le Canada se situe au dernier et 18^e rang (7,7 millions de tonnes) [24].

La consommation de produits laitiers varie fortement d'un continent à l'autre, du fait du disponible et des habitudes alimentaires. Si elle est en moyenne de 104 kg/an et par habitant en 2010 à l'échelle de la planète, elle est de 43 kg en Afrique, de 67 kg en Asie et de 290 kg par habitant dans les 27 pays de l'Union Européenne et sur le nord du continent américain (USA et Canada) [25].

Au Mali, l'élevage constitue un des piliers de l'économie. Il occupe la troisième place des produits d'exportation après l'or et le coton et occupe près de 80 % de la population. Il contribue pour 11% du Produit Intérieur Brut (PIB) et a rapporté en 2010 environ 246 milliards de FCFA de recettes [26].

Cependant, en l'absence d'un recensement actualisé, les données statistiques disponibles indiquent que l'effectif du cheptel national est estimé au 31/12/2013 à 10.012.900 têtes de bovins, 13.735.500 ovins, 19.126.800 caprins [27]. Ces informations montrent que le Mali dispose d'un potentiel laitier très important. En effet le disponible laitier au Mali était estimé en 2010 à 972.110.876 litres, environ 1.000.000 tonnes (la masse volumique du litre de lait étant équivalente à 1,03 kilos). Celui des bovins en particulier équivaut à 281 037 023 litres, soit 289 468 tonnes, et représente 29% de la production laitière totale. Cette production fait des bovins les deuxièmes contributeurs au disponible laitier du pays, après les chèvres qui occupent la première place avec 39% de la production malienne de lait [28].

En ce qui concerne les modes de production, il est estimé que le lait est produit à 98% par des élevages traditionnels, le reste étant dévolu à la production aux zones périurbaines [28].

Le principal débouché pour la filière laitière est la demande en ville, qui augmente avec l'urbanisation rapide du pays, la population urbaine ayant triplé de 1960 à 2010 [29].

Le lait est le troisième produit agro-alimentaire le plus importé au Mali après le riz et le sucre. Il provient très majoritairement de l'Union Européenne (UE). En effet, 93,4% du lait et des produits laitiers importés proviennent de ce continent, avec une part prépondérante de la France et des Pays-Bas. [30]. L'espace UEMOA représente la deuxième source d'importation du lait avec les 6,6% restants. Au sein de cet espace, c'est la Côte d'Ivoire et le Sénégal qui dominent les importations au Mali [28]. Celles-ci se trouvent actuellement d'autant plus nécessaires que l'évolution de la production locale ne peut couvrir les variations de la demande, principalement due au développement démographique [31]. Au Mali les importations sont évaluées à 20 milliards de F CFA par an, elles pèsent lourd sur la balance commerciale [26]. Le lait importé (incluant une

partie minime de lait liquide) représenterait entre 50 et 80% du lait consommé au Mali et 94% à Bamako [32]. La consommation de lait (tous laits confondus) par habitant a peu évolué au Mali depuis les années 1960. Elle est toujours estimée entre 40 et 60 litres par personne et par an [33].

Une étude dans la ville de Ségou montrait en 2005 que 90% des foyers consommaient du lait en poudre, contre 58% à égalité pour le lait frais et caillé [34].

D'une manière générale, la quantité de lait consommée au Mali peut être considérée comme plutôt faible, car la FAO recommande une consommation minimale de 62 litres/an/habitant [35].

La quantité totale de lait importé est de 11 387 tonnes pour l'année 2010 [10]. Cependant sur les 11 387 tonnes, 9407 tonnes proviennent de lait en poudre et 57 tonnes de lait concentré, qui constitue une quantité nettement supérieure au lait liquide. Afin de convertir ces données d'importation, nous utilisons un coefficient de 6 à 7 pour le lait en poudre et de 3 pour le lait concentré. [36]

Le coefficient de 1,03 est utilisé pour convertir les tonnes de lait liquide en milliers de litres de lait liquide. L'application de ces coefficients permet de déduire que l'équivalent de 73,6 millions de litres de lait liquide a été importé au Mali en 2010[28].

La poudre de lait écrémé et entier est la principale forme sous laquelle s'effectue le commerce du lait au niveau mondial.

Le risque d'intoxication alimentaire est une menace pour tous les pays, mais singulièrement pour ceux en développement dont le Mali.

Le lait peut être un vecteur important de plusieurs types de contamination : microbiologique, chimique, physique et radiologique.

Les contaminants microbiologiques ont fait l'objet de plusieurs études, au contraire au Mali aucune étude n'a été faite sur les contaminants tels, les radionucléides, l'Aflatoxine et la mélamine.

C'est pour contribuer à la connaissance de la qualité sanitaire du lait importé au Mali que la présente étude est initiée. Elle a pour objectif principal de conduire une évaluation des risques liés aux contaminants radionucléides, d'Aflatoxine M1 et de la Mélamine susceptibles de polluer les laits.

II. MATÉRIELS ET MÉTHODES

L'étude est transversale et descriptive par sondage aléatoire simple.

Elle a combiné d'une part, des investigations par enquêtes, et d'autre part, des prélèvements et analyses d'échantillons.

Comme 80 à 95 % des laits importés sont consommés dans la ville de Bamako et où se trouvent tous les importateurs répertoriés sur la liste fournie par les services compétents du Mali, Direction Nationale du Commerce et de la Concurrence (DNCC) 2014. L'étude a concerné le District de Bamako et a couvert ses six communes de 2015 à 2018.

Les sites de prélèvements ont été les dépôts des principaux importateurs / grossistes, semi grossistes et détaillants dans les six communes du District de Bamako.

L'étude a concerné les laits importés poudre et concentré (cibles primaires), les importateurs/grossistes, les vendeurs semi-grossistes, et les détaillants du District de Bamako (cibles secondaires) en 215.

Ont été inclus dans l'échantillon de l'étude les laits importés présents chez les importateurs/grossistes, semi grossistes et détaillants consentants dans les six communes du District de Bamako évoluant depuis plus de 6 mois dans ce négoce.

N'ont pas été inclus dans l'étude les importateurs /grossistes, semi grossistes et les détaillants de laits importés non consentants dans les six communes du District de Bamako.

La taille de l'échantillon est calculée à partir de la formule de Daniel Schwartz :

$$n = z^2pq/i^2$$

n = taille de l'échantillon ;

$Z = 1$ l'intervalle de confiance = 1,96

Dans la littérature nous avons trouvé le pourcentage de contamination du lait à 11%.

Ont participé à l'enquête 150 importateurs de lait /grossistes, vendeurs semi-grossistes et détaillants.

Nous avons enquêté :

- 18 importateurs de lait/vendeurs grossistes de lait importé,
- 66 semi grossistes et
- 66 détaillants de lait importé.

Inventaire des dépôts d'importateurs, des magasins des importateurs/grossistes, des boutiques ou points de vente des détaillants de lait importé a été effectué en 2015.

L'étude a retenu les six communes du District de Bamako. Sur la base de la liste des importateurs/grossistes, des semi grossistes et des détaillants de chaque commune, des importateurs/grossistes, des semi grossistes et des détaillants de laits importés ont été enquêtés en 2015.

L'échantillonnage a été effectué par prélèvement au hasard d'une boîte entière de lait en poudre ou concentré, d'un sachet entier en poudre ou d'un composite d'échantillons de lait en poudre chaque fois qu'il s'agissait de sacs de lait en poudre.

La détermination des teneurs du lait en Aflatoxine M1 a été effectuée sur les échantillons de laits importés et analysés au CARSO-Laboratoire Santé Environnement Hygiène de Lyon (France) en 2016.

La détermination de l'aflatoxine M1 a été effectuée par Immuno-affinité / HPLC INF selon la norme ISO 14501.

Les données ont été collectées par des enquêteurs auprès des importateurs de lait, des demi-grossistes et des détaillants.

Les données collectées ont porté sur les caractéristiques générales des magasins et dépôts des importateurs/grossistes, semi grossistes et détaillants, les conditions de transport, de conservation et de stockage du lait.

Enfin, un total de 150 échantillons a été prélevé soit vingt (20) échantillons de lait en poudre et cinq (5) échantillons de lait concentré par commune et analysés au CARSO-Laboratoire Santé Environnement Hygiène de Lyon pour l'Aflatoxine M1.

Les données ont été collectées par :

- enquête par questionnaire ;
- l'entretien individuel ;
- l'entretien en focus groupe ;
- prélèvement des échantillons.

Les outils utilisés pour la collecte des données ont été :

- le questionnaire administré en mode semi-directif auprès des importateurs/grossistes, les semi grossistes et détaillants de lait.
- la grille d'observation de l'environnement des aires de stockage et de conservation du lait en poudre et concentré.
- les fiches d'identification des échantillons de laits en poudre et des laits concentrés.
- les fiches de résultats d'analyse du lait en poudre et concentré.

Les fiches d'enquête ont été dépouillées manuellement et les données ont été saisies avec le logiciel Epi- info version 7 et les analyses à l'aide de SPSS.

Les variables qualitatives ont été décrites en utilisant des proportions. Les variables quantitatives ont été présentées par leur moyenne, écart-type, minima et maxima (si distribution normale).

Pour les résultats analytiques une analyse bi variée a été réalisée.

Le but de cette analyse a été de vérifier s'il y a une association entre les principales variables et la qualité du lait importé.

Un risque d'erreur α de première espèce égale à 5% a été adopté. Les valeurs de p-value inférieures à 0,05 sont considérées comme statistiquement significatives.

Ensuite une analyse multivariée a été effectuée. Au cours de celle-ci laquelle a été fait la modélisation de la probabilité de la survenue de la qualité chimique insuffisante du lait importé. L'association entre les principales variables a été calculée par le khi2.

La recherche qualitative et quantitative de de l'aflatoxineM1 a été effectuée.

Les prélèvements ont été effectués par le technicien de Laboratoire sous la supervision du chercheur principal.

Le matériel utilisé pour le prélèvement des échantillons :

- ✓ Des gants stériles pour le technicien chargé du prélèvement ;
- ✓ Des sacs stériles pour des échantillons de lait prélevés ;
- ✓ Des spatules stérilisées ;
- ✓ Des sondes stérilisées.

L'ensemble de la boîte de lait en poudre ou du lait concentré, du sachet entier de lait en poudre ou le composite d'échantillons de lait en poudre conditionné dans les sacs, a été prélevé.

Des lettres ont été adressées aux maires des six communes du District de Bamako pour solliciter leur autorisation.

La méthode se limita à l'administration de questionnaires aux enquêtés et au prélèvement des échantillons de lait importé.

L'étude a été réalisée dans l'anonymat, en tenant compte du consentement libre, éclairé et signé des enquêtés.

La participation à l'étude n'a pas offert de motivation financière, l'achat des échantillons de lait importé a été faite au prix coûtant dans les boutiques des grossistes, semi grossistes et supermarchés pour l'étude. Les interviews ont été réalisées en tenant compte de la disponibilité des participants et seront confidentielles.

Chaque enquêté était libre de se retirer quand il le souhaitait sans aucun préjudice.

Les participants ont été informés qu'ils pouvaient choisir de ne pas répondre aux questions qui leur étaient inconfortables. La responsabilité finale pour maintenir la confidentialité des données est celle du doctorant.

L'enquête a permis d'identifier les facteurs associés à la qualité sanitaire du lait importé afin de contribuer à assurer la protection des populations par la réduction des risques liés à l'aflatoxine M1 dans les laits importés au Mali.

III. RESULTATS-COMMENTAIRES- DISCUSSION

Les résultats des analyses labo des échantillons prélevés chez les importateurs / grossistes, les demi-grossistes, les détaillants de laits importés sont présentés dans les tableaux 1 et 2.

Tableau I : les résultats des analyses labo chez les semi-grossistes et détaillants en aflatoxine M1

N°	Résultats	N°	Résultats		N°	Résultats	N°	Résultats
SG1	100ng/kg	SG34	100ng/kg		DT1	100ng/kg	DT34	100ng/kg
SG2	30ng/kg	SG35	100ng/kg		DT2	100ng/kg	DT35	100ng/kg
SG3	100ng/kg	SG36	100ng/kg		DT3	100ng/kg	DT36	30ng/kg
SG4	100ng/kg	SG37	100ng/kg		DT4	100ng/kg	DT37	30ng/kg
SG5	100ng/kg	SG38	100ng/kg		DT5	100ng/kg	DT38	30ng/kg
SG6	100ng/kg	SG39	100ng/kg		DT6	100ng/kg	DT39	100ng/kg

SG7	100ng/kg	SG40	100ng/kg		DT7	30ng/kg	DT40	30ng/kg
SG8	100ng/kg	SG41	100ng/kg		DT8	100ng/kg	DT41	30ng/kg
SG9	100ng/kg	SG42	100ng/kg		DT9	30ng/kg	DT42	100ng/kg
SG10	100ng/kg	SG43	100ng/kg		DT10	30ng/kg	DT43	100ng/kg
SG11	100ng/kg	SG44	100ng/kg		DT11	100ng/kg	DT44	100ng/kg
SG12	100ng/kg	SG45	100ng/kg		DT12	100ng/kg	DT45	100ng/kg
SG13	100ng/kg	SG46	100ng/kg		DT13	100ng/kg	DT46	100ng/kg
SG14	30ng/kg	SG47	30ng/kg		DT14	100ng/kg	DT47	100ng/kg
SG15	100ng/kg	SG48	100ng/kg		DT15	100ng/kg	DT48	100ng/kg
SG16	100ng/kg	SG49	100ng/kg		DT16	100ng/kg	DT49	100ng/kg
SG17	30ng/kg	SG50	100ng/kg		DT17	100ng/kg	DT50	100ng/kg
SG18	100ng/kg	SG51	30ng/kg		DT18	30ng/kg	DT51	100ng/kg
SG19	100ng/kg	SG52	100ng/kg		DT19	100ng/kg	DT52	100ng/kg
SG20	100ng/kg	SG53	100ng/kg		DT20	100ng/kg	DT53	30ng/kg
SG21	100ng/kg	SG54	100ng/kg		DT21	100ng/kg	DT54	100ng/kg
SG22	100ng/kg	SG55	100ng/kg		DT22	100ng/kg	DT55	30ng/kg
SG23	100ng/kg	SG56	30ng/kg		DT23	30ng/kg	DT56	30ng/kg
SG24	30ng/kg	SG57	100ng/kg		DT24	30ng/kg	DT57	100ng/kg
SG25	30ng/kg	SG58	100ng/kg		DT25	100ng/kg	DT58	100ng/kg
SG26	100ng/kg	SG59	100ng/kg		DT26	100ng/kg	DT59	100ng/kg
SG27	100ng/kg	SG60	100ng/kg		DT27	30ng/kg	DT60	100ng/kg
SG28	100ng/kg	SG61	30ng/kg		DT28	30ng/kg	DT61	100ng/kg
SG29	100ng/kg	SG62	100ng/kg		DT29	300ng/kg	DT62	30ng/kg
SG30	30ng/kg	SG63	100ng/kg		DT30	100ng/kg	DT63	100ng/kg
SG31	100ng/kg	SG64	100ng/kg		DT31	30ng/kg	DT64	100ng/kg
SG32	100ng/kg	SG65	100ng/kg		DT32	100ng/kg	DT65	100ng/kg
SG33	100ng/kg	SG66	100ng/kg		DT33	30ng/kg	DT66	100ng/kg

Tableau II : les résultats des analyses labo chez les importateurs-grossistes et en aflatoxine M1

Aflatoxine M 1	
Numéro d'échantillons	Résultats
G1	100ng/kg
G 2	100ng/kg
G3	100ng/kg
G4	100ng/kg
G5	100ng/kg
G6	100ng/kg
G7	100ng/kg

G8	100ng/kg
G9	100ng/kg
G10	100ng/kg
G11	100ng/kg
G12	100ng/kg
G13	100ng/kg
G14	100ng/kg
G15	100ng/kg
G16	100ng/kg
G17	100ng/kg
G18	100ng/kg

L'étude n'a pas permis d'établir une relation entre :

- ✓ La contamination en Aflatoxine M1 et les conditions de stockage et de commercialisation du lait importé au Mali ;
- ✓ Nous pensons que les contaminations sont bien antérieures à l'importation des laits et pouvaient être liées aux aliments bétail ou aux conditions environnementales de production des laits.

Les acteurs impliqués dans l'importation et la commercialisation des laits dans leur large majorité ne disposaient pas d'informations sur leurs stocks de 2012,2013 et 2014.

La disposition normale des laits est respectée par 50% des importateurs contre 50% qui ne la respectent pas.

Les importateurs de laits enquêtés pour 33,33% utilisaient des insecticides lors du stockage contre 66,67%.

Tous les demi-grossistes de laits importés enquêtés disposaient des laits importés en poudre et ils étaient 37,88% à disposer des laits concentrés en vente.

Les caractéristiques sociodémographiques des acteurs impliqués dans l'importation et la vente en gros, en demi-gros et en détails du lait importé au Mali ont été décrites. Les méthodes de stockage et les conditions de vente des laits importés au Mali ont été caractérisées. Les teneurs des échantillons de lait importé en Aflatoxine M1 ont été déterminées. Les contraintes liées à l'amélioration de la qualité chimique du lait importé au Mali ont été identifiées. Les facteurs associés à la contamination du lait importé au Mali par l'Aflatoxine M1 ont été déterminés. Ainsi tous les objectifs assignés de cette étude ont été atteints.

L'échantillonnage probabiliste avec le sondage aléatoire simple proportionnel à la taille des organisations commerciales a permis d'avoir une taille suffisante d'échantillons de lait et par conséquent choisir un nombre représentatif d'importateurs/grossistes, demi-grossistes et détaillants de lait importé. Néanmoins, quelques limites méritent d'être signalés notamment la réticence de certains importateurs de laits de participer à l'enquête, la difficulté de faire la différence entre les activités des différents acteurs impliqués dans la commercialisation du lait importé au Mali, l'accès difficile à certains magasins de vendeurs de lait notamment dans la zone commerciale de Dabani au Grand Marché de Bamako, l'impossibilité d'échantillonner le lait concentré non sucré pour des raisons techniques liées aux exigences des laboratoires d'analyses, l'absence de laboratoire d'analyse compétent au Mali et dans la région ouest africaine pour la détermination des teneurs en Aflatoxine M1.

L'âge moyen des importateurs/grossistes de lait enquêté était de 40 ans avec un minimum d'âge de 30 ans et un maximum de 60 ans. D'une manière concrète, les importateurs de lait enquêté avaient par ordre décroissant entre : 30-39 ans (44,40%), 40-49 ans (16,70%), 50-59 ans (22,20%), 20-29 ans (11,10%) et 60-69ans (5,60%)

Tous les importateurs de lait enquêtés en 2015 étaient de sexe masculin.

Les importateurs de lait étaient dans : 27,78% des cas Sarakollés, 22,22% Bambaras, 11,11% des cas Sonrhaïs, 11,11% des cas Libanais 11,11% des cas Dogon, 5,56% des cas Malinkés, 5,56% des cas Peulhs et 5,56% des cas Sénoufo.

Les importateurs de lait enquêtés dans 94,44% des cas étaient mariés et dans 5,56% des cas étaient des célibataires.

Selon le Tableau N°9, les importateurs de lait avaient un niveau d'étude supérieur dans 44,44% des cas ; dans 16,67% des cas un niveau secondaire ; dans 5,56% des cas un niveau primaire et dans 33,33% des cas étaient non scolarisés.

Les importateurs de laits étaient organisés en association dans 11,11% des cas et dans 88,89% des cas des indépendants.

Les importateurs de laits s'approvisionnaient principalement dans 22,23% des cas en Hollande, dans 16,67% des cas en France, dans 11,11% des cas en Belgique, dans 5,56% des cas en Suisse, dans 5,56% des cas au Danemark, dans 5,56% des cas en Turquie et dans 5,56% des cas en Nouvelle Zélande.

Tous les importateurs de laits, soient dans 100% des cas importaient du lait en poudre. Par ailleurs, 66,67% d'entre eux importaient du lait concentré sucré en plus du lait en poudre. Enfin, Seuls cinq (5) des dix-huit importateurs de laits, soient 27,78% importaient du lait concentré non sucré en plus du lait en poudre.

Les marques de laits importées par les importateurs étaient principalement Mixwell (27,78%) ; Belle Hollandaise (11,11%) et 5,56% des cas pour les marques : Tow cows, Nura, Nido, Milko, Lait Rose, Incolac, Green Flag, France Lait, Dano, Alban.

Les importateurs de laits stockaient les laits, dans 22,22% des cas pendant 1 mois ; dans 22,22% des cas pendant 3 mois ; dans 5,56% des cas pendant 4 mois ; dans 5,56% des cas pendant 6 mois. Cependant, dans 44,44% des cas ils ne savaient pas la durée de stockage des laits vendus.

L'approvisionnement en lait se faisait, dans 27,78% des cas par trimestre, dans 11,11% des cas par semestre, dans 5,56% des cas par an, Toutefois, dans 55,56% des cas ils utilisaient d'autres durées pour s'approvisionner.

Les marques les plus vendues par les importateurs de lait étaient, dans 22,22% des cas Mixwell, dans 11,1% des cas Laicran, Milko et Nido et dans 5,56% des cas les marques suivantes : Tow Cows, Nura, Incolac, France lait, Dano et Alban.

Un nombre important d'importateurs de laits, soient 55,56% importaient exclusivement du lait en poudre et 44,44% des enquêtés importaient du lait concentré et en poudre.

La moitié des importateurs stockaient le lait dans : 50% des cas dans le magasin disposé sur des palettes, 16,70% dans la boutique sur étagères, 11,11% des cas dans la boutique sur étagères et palettes, 11,11% des cas dans la boutique sur étagères et à même sur le sol, 5,56% des cas dans le magasin à même sur le sol, 5,56% des cas dans le magasin disposé sur des palettes et à même sur le sol.

La disposition normale du lait par rapport aux murs et au plafond est respectée par 50% des importateurs de lait contre 50% qui ne la respectent pas.

Les importateurs de lait enquêtés pour 33,33% utilisaient des insecticides lors du stockage contre 66,67% qui ne les utilisaient pas.

Les techniques d'usage des insecticides chez les importateurs de lait dans 27,78% des cas la pulvérisation dans 5,56% des cas la Fumigation.

Les importateurs de laits importés s'approvisionnaient en insecticides et dans 22,23% des cas sur le marché.

Les importateurs vendaient du lait qui avaient pour contenant dans 72,22% des cas « sac en papier », 5,56% des cas « sac en plastique » 5,56% des cas « sac en papier et Sac en plastique ».

Les importateurs disposaient du lait qui avait pour contenant de type 2 dans 44,44% des cas « boîte métallique, carton » et dans 27,77% des cas « Boîte métallique ».

Tous les importateurs de lait enquêtés disposaient au moment de l'enquête des stocks de lait.

Les importateurs de lait dans 38,90% des cas n'avaient pas la maîtrise du temps de conservation de leurs stocks ; dans 16,70% pour chacun des cas la durée de conservation était de 90 jours et 60 jours, dans 11,10% elle était de 30 jours et dans 5,60% des cas elle était de 21 jours, 180 jours et 15 jours.

Les importateurs dans : 27,78% des cas stockaient leurs produits à la température ambiante, 44,44% des cas à la température de 25°C, 22,22% des cas à la température de 27°C, 5,56% des cas à la température de 20°C.

Tous les 150 échantillons de laits importés analysés sont contaminés en Aflatoxine M1. Chez les importateurs grossistes tous les 18 échantillons sont contaminés avec une teneur constante d'aflatoxine M1 inférieure à 100ng/kg. Les 66 échantillons de laits importés au niveau des demi-grossistes sont contaminés en Aflatoxine M1, dont 9 échantillons avec une teneur inférieure à 30ng/kg et 57 échantillons avec une teneur inférieure à 100 ng/kg. Tous les 66 échantillons de laits importés au niveau des détaillants sont contaminés, avec 20 échantillons contaminés avec une teneur d'aflatoxine inférieure à 30ng/kg et 46 échantillons contaminés avec une teneur inférieure à 100ng/kg. Nos résultats sont différents de ceux obtenus par l'équipe d'une étude menée en 2008 en Tunisie. Cette étude a été basée sur une enquête de terrain auprès de 50 fermes laitières tirées au sort ainsi qu'au niveau des 9 usines principales d'aliments concentrés (représentant alors 70% de la production nationale) et de 125 centres de collecte de lait.

Au cours de l'enquête (questionnaire basé sur les guides de bonnes pratiques agricole et bonnes pratiques de fabrication du Codex Alimentarius), 280 échantillons ont été prélevés (un total de 125 échantillons d'aliments de vache laitière et 155 échantillons de lait cru) et analysés par HPLC afin de quantifier les taux d'AFB1 et d'AFM1 contenus respectivement dans les aliments pour vaches laitières et dans leur lait [37].

L'AFM1 n'a été retrouvé que dans un seul échantillon de lait à une teneur (0,04 µg/l) aussi inférieure au seuil toléré par la législation.

Les faibles teneurs d'aflatoxine retrouvées au cours de cette étude ont pu être expliquées essentiellement par les conditions climatiques peu propices au développement de champignons et à l'absence de grande quantité d'aliment stocké autre circonstance particulière liée à la crise mondiale dans quel domaine pendant la même période.

Nos résultats sont proches des données sur la contamination par l'Aflatoxine M1 du lait et des produits laitiers en France. Résultats de 1046 analyses effectuées durant la période allant du 1er septembre 1980 au 30 juin 1981 (M. Blanc, A. Karleskind).

L'Aflatoxine M1 a été décelée en teneurs supérieures à 50 ppt dans 430 échantillons sur 1046, ce qui représente plus de 40% d'échantillons pollués. La fréquence de cette pollution est très différente, suivant le type de produits laitiers concernés ; c'est ainsi que les valeurs les plus élevées sont relevées pour les poudres de lait (58%), les aliments lactés pour nourrissons le lait liquide (47%). A l'inverse, c'est dans le beurre que la fréquence la plus faible est observée (8%). Les concentrations en Aflatoxine M1 des échantillons contaminés, exprimées sur le produit vont de 50 ppt à plus de 5000 ppt.

IV. CONCLUSION

Tous les 150 échantillons de lait importé analysés, étaient contaminés en Aflatoxine M1.

Chez les importateurs grossistes tous les 18 échantillons étaient contaminés avec une teneur constante d'Aflatoxine M1 de 100ng/kg.

Les 66 échantillons de lait importé au niveau des demi-grossistes étaient contaminés en Aflatoxine M1, dont 9 échantillons avec une teneur de 30ng/kg et 57 échantillons avec une teneur de 100 ng/kg.

Tous les 66 échantillons de laits importés au niveau des détaillants étaient contaminés, 20 échantillons contaminés avec une teneur d'Aflatoxine de 30ng/kg et 46 échantillons contaminés avec une teneur de 100ng/kg.

Tous les résultats d'Aflatoxine M1 trouvés étaient inférieurs à la norme du Codex Alimentarius qui est de 500ng/kg.

Pendant la contamination de tous les échantillons analysés soient 150 échantillons de laits par cette toxine pose un problème réel de sécurité. La vigilance s'impose aux acteurs impliqués dans la sécurité sanitaire des aliments aux Mali, les décideurs, les associations des consommateurs, les services de contrôle et les laboratoires d'analyses etc.

RÉFÉRENCES

- [1]. **Kurtzman CD, Horn BW et Hesseltine CW (1987)** *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 53: 174-158.
- [2]. **DORNER J.W., COLLIER J, DIENER U.L., 1984.** The Relationship of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* with reference to production of aflatoxins and cyclopiazonic acid. *Mycopathologia*, 87, p.13-15.
- [3]. **OSWALD P.I., 2008.** La réalité des mycotoxines NAFAS Nutrition aliments fonctionnels aliments santé Volume 6, n°4, p.85.
- [4]. **KUMAGAI, S., 1989.** Intestinal absorption and excretion of aflatoxin in rats. *Toxicology and applied Pharmacology* Volume 97. Issue 1. January 1989. p88-97.
- [5]. **PFOHL-LESZKOWICZ, A., CASTERGNARO, aM., 1999.** Les mycotoxines dans l'alimentation Evaluation et gestion du risque. 249-277.
- [6]. **AFSSA. 2006.** Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Rapport synthétique". AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments). <https://www.anses.fr/fr/system/files/RCCP-Ra-Mycotoxines.pdf>
- [7]. **IARC (International Agency for Research on Cancer). 2002.** Aflatoxins. In: IARC monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans, World Health Organization Vol. 82. IARC, Lyon, France.
- [8]. **Steyn PS (1998)** The biosynthesis of mycotoxins. *Rev Méd Vét*, 149, 6: 469-478.
- [9]. **Jaquet J, Lafont J et Lafont P (1982)** Sur la contamination du lait par les aflatoxines. *Revue laitière française*, 42 : 63-67
- [10]. **El-nezami HS, Nicoletti G, Neal GE, Donohue DC et Ahokas J (1995)** Aflatoxin M1 in human breast milk samples from Victoria, Australia and Thailand. *Food Chem Toxicol*, 33:173-179.
- [11]. **Galvano F, Galofaro F et Galvano G (1996)** Occurrence and stability of aflatoxin M1 in milk and milk products : a worldwide review. *J Food Prot*, 59: 1079- 1090.
- [12]. **Firmin S. 2011.** Efficacité de détoxification de l'aflatoxine B1 et de l'ochratoxine A par un adsorbant organique : Evaluation par la balance d'excrétion et les paramètres toxicocinétiques chez le rat et la brebis laitière. Thèse de Doctorat. Université Blaise Pascal.
- [13]. **Whitlow L-W., Hagler W-M-J. 2001.** La contamination des aliments par les mycotoxines : un facteur de stress additionnel pour les bovins laitiers. Conférence exposée dans le 25^{ème} symposium sur les bovins laitiers CRAAQ-2001. http://www.agrireseau.qc.ca/bovinslaitiers/Documents/2001_Whitlow.pdf.
- [14]. **Whitlow L-W., Hagler W-M-J. 2010.** Mold and Mycotoxin Issues in Dairy Cattle: Effects, Prevention and Treatment. Dairy July 19, 2010. North Carolina State University.
- [15]. **Hussein HS et Brasel JM (2001).** Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 167: 101-134.
- [16]. **Herrman JL et Walker R. (1999)** Risk analysis of mycotoxins by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). *Food Nutr Agr*, 23: 17- 24.
- [17]. **Chen SY, Chen CJ, Chou SR, Hsieh LL, Wang LY, Tsai WY, Ahsan H et Santella RM (2001)** Association of Aflatoxin B1-albumin adduct levels with hepatitis B surface antigen status among adolescents in Taiwan. *Cancer Epidemiol Biomarker*, 10 (11): 1223-1226.
- [18]. **Aguillar F, Hussain SP et Cerutti P (1993)** Aflatoxin B1 induces the transversion of G--T in codon 249 of the p 53 tumour suppresser in human hepatocyte. *Proc Nat Acad Sci* , 90 : 8586- 8590.
- [19]. **(Fremy, 1982).** Processus d'élimination de l'AFB1 dans l'organisme
- [20]. **Jaquet J, Lafont J et Lafont P (1982)** Sur la contamination du lait par les aflatoxines. *Revue laitière française*, 42 : 63-67
- [21]. **Richard JL (1998)** Mycotoxins, Toxicity and Metabolism in Animals- A system Approach Overview. *Mycotoxins and Phycotoxins-Developpements in Chemistry, Toxicology and Food Safety*, Ed by M. Miraglia, H. van Egmond, C. Brera, and J. Gilbert. USA : 363- 397.
- [22]. **André Franque ville (1993)** *Surproduction et pénurie de lait en Bolivie Quand la libéralisation désorganise la production nationale* ; *Cah. Sci. Hum.* 29 (1): 139-151
- [23]. **FAO, 2013** La production de lait dans le monde

- [24]. **Peraicaetal.1999 ; Dragacci, 2002.** Risques potentiels liés à la présence de mycotoxines dans les plantes.[enligne](2002)Adresse URL:<http://www.afssa.fr/ftp/colloques/ogm1/04.pdf>.Consulté le 12/01/2005/Toxic effects of mycotoxins in humans. Bull.World Health Organ., 1999, **77**,754-766.
- [25]. **CCIL ,2004** Centre canadien d'information laitière, chiffres 2004
- [26]. **CNIEL à partir du FAO Food Outlook de juin 2011**
- [27]. **DNSI, 2010** Rapport annuel de la Direction Nationale de la Statistique et de l'Information
- [28]. **DNPIA, 2013** Rapport annuel sur l'élevage au Mali
- [29]. **DNPIA ; 2010** Rapport diagnostic sur la situation de l'élevage au Mali
- [30]. **Banque Mondiale ; 2012** Rapport 2012 de la Banque Mondiale sur le Mali ;
- [31]. **Pinaud S., 2008,** Pinaud S., 2008, le commerce du lait en poudre : Entre production et échange, de la France à Bamako. Mémoire de Master recherche Science sociale, Paris X Nanterre, France, septembre2008. p.72.
- [32]. **Touré, M. et al. 2010.** Développementdel'élevageetréductiondelapauvretéauMali.Diagnosticde la situation de l'élevage. Partenariat pour le développement de l'élevage, la réduction de la pauvreté et la croissance économique en Afrique. *A live (African. Lives tock Initiative).*
- [33]. **Pomeranz, S. 2006.** Etude sur les filières laitières au Mali. Comité Français pour la Solidarité Internationale.
- [34]. **FAOSTAT 2012** Rapport annuel sur le lait
- [35]. **Corniaux, C., etal.2005.** Consommation de lait et de produits laitiers dans les ménages de Ségou (Mali). Institut d'Economie Rurale.
- [36]. **MEP, 2008** Ministère de l'Elevage et de la Pêche. 2008. Stratégie de valorisation du lait cru local au Mali.
- [37].**Meyer, C., DuteurtreG.2001.** Equivalents lait et rendements laitiers : modes de calcul et utilisation. In « Marchés urbains et développement laitier en Afrique subsaharienne. Actes de l'atelier international,9-10sept.1998. CIR
- [38]. **A. MABROUK Wafa ; ATTIA Thouraya; REKHIS J; BENZARTI M; BEL HASSEN N; RIAHI J; MEJRI H 2009 à l'INAT** Mémoire de master Ecophysiologie et systèmes de productions animales (ENMV Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire, ANCSEP, Agence Nationale de Contrôle sanitaire et environnementale des Produits) »