

## Recherches sur la production de toxine par *Aspergillus flavus*

par P. BOUTIBONNES et J. JACQUET (1)

---

Nous avons précisé, il y a quelque temps, les caractères morphologiques et culturaux des *Aspergillus* pathogènes (20) et notamment ceux d'*A. flavus* dont on sait l'immense intérêt qu'il suscite actuellement en raison de la sécrétion d'une toxine à action aiguë, létale, et chronique, cancérogène. C'est à préciser les conditions de production de cette substance que nous nous sommes attachés depuis.

Nous pensons, tout d'abord, que l'on n'a pas le droit de bousculer d'un seul coup les règles traditionnelles de formation des mots savants, déjà bien compliqués par eux-mêmes et qu'au terme d'aflatoxine préconisé par SARGEANT et collaborateurs en 1961 (26), il faut préférer celui de flavatoxine, cas particulier d'une mycotoxine produite par *Aspergillus flavus*. Le préfixe « a » évoque, en effet, inévitablement, un sens privatif qui est anormal ici. De la même façon, l'hémolysine dont nous avons démontré précédemment la production par *A. clavatus* est une clavatoxine (7-22).

Quoi qu'il en soit, la toxine a été recherchée et dosée par dissolution dans le chloroforme du résidu d'épuisement dans l'extracteur de SOXHLET par le méthanol. Une chromatographie sur papier révélée par fluorescence donne quatre types : deux taches sont bleues (toxines B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub>) dont les doses mortelles à 50 p. 100 pour le caneton d'un jour sont respectivement de 18,2 et 84,8 µg. Deux autres taches sont bleu-vert (toxines G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub>) dont les DL 50 sont cette fois de 39,2 µg et 172,5 µg. Le procédé a été mis au point au *Tropical Products Institute* et simplifié pour utilisation en analyse courante par SCREENIVASAMURTHY et Coll. (27). Le titrage est réalisé par appréciation de la plus petite quantité de substance capable d'être révélée par la lumière ultraviolette de longueur d'onde 3.650 Å. En fait, on ne cherche pas ici à séparer les différentes fractions, et la dose

---

(1) Note présentée à la séance du 6 juillet 1967.

minimale correspond à 0,02 µg. La fluorescence n'est pas absolument spécifique et RICHIR et collaborateurs (25) ont pu montrer qu'il y avait des possibilités d'erreur avec les arachides : présence de taches en chromatographie et pas de toxicité sur l'animal de choix, le caneton d'un jour. Le test rend, cependant, par sa facilité, de grands services dans la pratique et il constitue une bonne approximation dans la détection rapide de cette mycotoxine.

#### I. — RÉPARTITION NATURELLE DES ASPERGILLUS FLAVUS

C'est sur les arachides que le champignon paraît le plus fréquent : *des spores* s'y trouvent presque constamment et nous en avons noté aussi bien sur les échantillons que nous avons examinés, provenant d'Afrique (Mali) que de Paris ou de Caen. Si les conditions d'humidification sont favorables (15 à 30 p. 100 dans le produit), la moisissure se développera. Il en sera de même pour les sous-produits tels que les tourteaux. On a signalé, par ailleurs, ce microorganisme sur les grains de coton, de maïs, toutes sortes d'autres tourteaux (16)... MOREAU (23) en relate l'abondance sur des pâtes alimentaires dont l'usine de fabrication en était littéralement envahie. Nous l'avons retrouvé dans des farines de céréales, des laits en poudre et aliments d'allaitement, des pistaches... Or, bien qu'il s'agisse uniquement de conidiospores, donc d'un danger en principe simplement potentiel, on ne saurait écarter complètement l'hypothèse d'un risque inhérent, d'abord parce qu'un apport d'eau permettra la germination et le développement, ensuite, parce que selon HESSELTINE et collaborateurs (17), il y a de la toxine déjà dans les spores, en très petite quantité, il est vrai.

Par ailleurs, nous avons vu la *moisissure parfaitement développée* sur des fruits divers, des produits de charcuterie, du maïs, des aliments du bétail, et surtout les carottes. Celles qui sont mises en sachets plastiques moisissent, en effet, très vite (en moins de 8 jours) et l'un des responsables du trouble est justement fréquemment *A. flavus*. Ceci soulève la question des influences hygiéniques de l'emballage des denrées alimentaires. De toutes façons, nous constatons déjà que le problème qui a tant créé d'émotion dans le monde savant par les travaux initiaux faits sur cette question n'est pas limité aux zones tropicales et à la seule arachide, comme on le pensait au début. Il est, au contraire, très général et entraîne des conséquences qui concernent à la fois l'homme et les animaux domestiques. Il y aurait donc toute une étude statistique et écologique à faire maintenant pour connaître la répartition précise par

régions climatiques et par types de substrat et de milieu d'*Aspergillus flavus* en France.

Un point essentiel, enfin, nous paraît de la plus haute importance pratique : il y a des souches qui sont toxigènes (28 à 30 p. 100 environ des nôtres) et d'autres qui ne le sont jamais. Mais, il existe bel et bien des toxigènes dans notre pays et tout aussi actives que celles des zones tropicales. Les deux plus puissantes que nous possédions proviennent, l'une de Madagascar (aliments du bétail), l'autre de Caen (carottes). Il resterait à savoir si le caractère production de flavatoxine est parfaitement constant, ou si les mutations sont fréquentes, et s'il y a en pratique, passage d'un type à l'autre. Par ailleurs, comme nous allons le montrer ci-dessous, les variétés toxigènes ne le sont qu'en présence de certains substrats inducteurs, comme nous l'avions démontré déjà sur *A. clavatus* où l'amidon est nécessaire tant à la production de la toxine que de l'antibiotique [21]. De toutes façons, les caractères morphologiques et culturels, sont parfaitement constants dans tous les cas.

Le taux de flavatoxine domine quand l'appareil conidien apparaît ; il semble bien que ce soit ce dernier qui soit l'organisme sécréteur, ce qui explique qu'il y en ait de toutes petites quantités dans les spores.

## II. — PRÉSENCE SPONTANÉE DE LA FLAVATOXINE

La présence de la moisissure développée en colonies apparentes à l'œil, et surtout des spores, n'est pas forcément, dans ces conditions, en relation avec la présence de toxine, puisque dans la majorité des cas, le champignon ne produit pas de poison, et ceci quel que soit le milieu sur lequel il pousse. Inversement, les produits préparés avec des composants eux-mêmes contaminés et dont le mycélium a disparu au cours des traitements renfermeront, quand même, malgré leur belle apparence, de la toxine. L'étiologie est à rapprocher ici de celle du botulisme. C'est le cas des aliments composés qui contiendront des tourteaux divers (arachides, palmistes, tournesol) du son, du blé, du maïs, du soja..., si l'un de ceux-ci a donné lieu précédemment au développement mycélien. Il ne faut pas compter, en effet, sur un chauffage pour détruire la flavatoxine qui se montre résistante à 100° C (COOMBS [11]) et même à 250° C (SARGEANT [26]). Enfin, pour tous les produits pulvérulents, et en particulier pour le lait desséché, nous avons établi, qu'à partir d'une humidité de 30 p. 100, le mycélium se développe d'une façon absolument insoupçonnable en dehors du microscope, sauf par l'apparition d'une coloration jaune (et encore, faut-il avoir un échantillon de comparai-

son) et cependant, il secrète déjà le toxique : 0,1 mg/kg au bout de 12 jours à la température du laboratoire. A 40 p. 100 d'eau, au bout de 20 jours, il y a déjà 0,3 mg/kg et l'on ne voit toujours microscopiquement que de petits amas, de petits blocs de poudre, des grumeaux sans apparence de moisissure.

Nos recherches effectuées au hasard décèlent dans une proportion inquiétante, des taux de l'ordre de 2 mg/kg dans de nombreux aliments des animaux (25 p. 100 d'entre eux) ; 0,5 mg/kg dans une farine pour porcelets et jusqu'à 5 mg/kg dans des carottes moisies.

### III. — CONDITIONS DE SÉCRÉTION DE LA FLAVATOXINE

#### A. — Température

Elle est très importante à considérer, ce champignon étant moins thermophile qu'*A. fumigatus*. C'est sur un milieu naturel que la plupart des auteurs s'accordent à trouver excellent pour la production de toxine que nous avons cherché à connaître l'influence thermique : des cacahuètes sont broyées, fortement humidifiées et étalées dans une fiole de Roux. *A. flavus* y cultive avec luxuriance. Toutes choses étant égales, d'ailleurs :

— à 12-15° C, il n'y a aucun développement, même après 30 jours et pas de trace de toxine.

— de 23 à 27° C, dès le 2<sup>e</sup> jour, le mycélium apparaît en taches blanchâtres ; le 4<sup>e</sup> jour, il y a un épais tapis duveteux. Quelques rares conidiophores se dressent. Le lendemain, les spores sont mûres et recouvrent tout le milieu d'une poussière jaune verdâtre. Le revers est jaune pâle. Dès 6 à 7 jours, il y a de 8 à 20 mg de toxine/kg, de Rf 0,3 à 0,32.

— à 30° C, les filaments mycéliens sont visibles dès le premier jour ; ils s'épaississent le 2<sup>e</sup>, en nappe plissée duveteuse, produisant en certains endroits des spores jaune verdâtre. Le 3<sup>e</sup> jour, la sporulation est manifeste environ sur un tiers de la surface. Au bout de 6 jours, il n'y a que de 0,1 à 0,5 mg/kg de toxine.

— à 37° C, 24 h après l'ensemencement, la surface est complètement recouverte par un lacis d'hyphes, qui, au bout de 30 h, évoluent pour former un véritable voile, qui s'épaissit et sporule le 3<sup>e</sup> jour, mais au bout de 5 jours, il n'y a aucune trace de mycotoxine.

— à 45° C, le champignon ne pousse pas.

Nous constatons donc qu'il n'y a pas corrélation entre l'intensité du développement du champignon en fonction de la température et la sécrétion de flavatoxine.

## B. — Humidité

On en saisit parfaitement le rôle avec la culture sur poudre de lait, dont nous avons déjà parlé (les teneurs de 30 et 40 p. 100 ont été étudiées ci-dessus); en ajoutant une quantité égale d'eau, au moment de l'inoculation en boîte de Roux, on constate une pousse très rapide de l'*Aspergillus*; au 4<sup>e</sup> jour, un voile épais recouvre toute la surface du milieu, la sporulation jaune verdâtre est intense, et au bout de 6 jours, il y a de 5 à 10 mg de toxine par kg, de Rf 0,31 et 0,9.

Avec adjonction de 50 p. 100 d'eau, la pousse est beaucoup plus discrète. Le milieu prend un aspect jaune sableux, sec, terreux. En certains endroits, au 5<sup>e</sup> jour, on aperçoit de très courts conidiophores et le microscope dévoile des formes de souffrance plus ou moins levuriformes; les hyphes se fragmentent en sortes d'arthrospores ou forment des conidiophores anormaux. Du 10<sup>e</sup> au 17<sup>e</sup> jour, on ne trouve que 0,5 mg de toxine par kg.

Sur la poudre de lait non humidifiée, la moisissure ne se développe pas du tout; en revanche, les spores gardent au sein de cet aliment leur pouvoir germinatif et, après un temps de repos de 4 à 5 mois, redonnent naissance lorsqu'on ajoute de l'eau, à un thalle abondant qui sporule rapidement (2 ou 3<sup>e</sup> jour).

D'une façon générale, sur la plupart des milieux naturels, l'humidité minimale inductrice de la toxinogénèse du substrat nous est apparue de l'ordre de 30 p. 100.

## C. — Développement sur des produits naturels après ensemencement expérimental.

La recherche de la toxine a été faite, sauf exception au bout de 6 ou 7 jours de culture à 20-23° C de nos différentes souches toxino-gènes. Suivant les produits utilisés, il y a plus ou moins d'un type ou l'autre de flavatoxine, différenciée, d'abord par la couleur, ensuite par la position de la tache par rapport au front de la chromatographie (Rf).

La meilleure sécrétion s'est effectuée sur du lait stérilisé homogénéisé à 2,6 % de lipides, à 22 °C : 200 mg/kg au bout de 9 jours et même 700 mg/kg avec une variété spécialement toxino-gène, ramenée du Tchad par l'un de nous. Il se forme toujours sur ce milieu un énorme voile de mycelium cérébriforme, épais (8 à 9 m/m), dur et compact comme un carpophore de champignon supérieur, qu'il faut découper aux ciseaux et qui renferme beaucoup de mycotoxine.

De très bonnes productions ont été obtenues sur le riz humidifié

(15 à 40 mg/kg), la mie de pain et les pâtes humidifiées (25 à 30 mg), le gruau d'avoine (15 à 20 mg).

De bonnes quantités ont été produites sur le blé ou la farine de blé, son de blé (13 à 15 mg), pomme de terre (10 à 12 mg), blé complet et millet, son de riz humidifiés (10/mg). Des taux encore élevés (6 à 8 mg) sont fournis sur tourteaux d'arachide humidifiée, noix, noisette, tomates humidifiées. On trouve de 4 à 5 mg (au bout de 11 jours) dans les graines de navette humidifiées, alors que celles de colza en donnent moins (1 à 1,5 mg) et celles d'œillette à peine (0,5 mg). Les autres graines font sécréter généralement des taux relativement faibles (de l'ordre de 1 à 2 mg), tournesol, alpiste, che-nevis, maïs (1 à 3 mg), setaria, orge. Quelques-unes même induisent 0,5 mg seulement (sarrazin, avoine). Certaines graines de légumi-neuses sont de mauvaises inductrices : pois (traces indosables) len-tilles (0,1 à 0,2 mg) — haricots et fèves (0,4 à 0,5 mg).

On pourrait s'attendre d'après les résultats exposés ci-dessus à une action inductrice importante de l'amidon ; or, il n'est sûrement pas seul en jeu ; bien sûr, on trouve que des produits qui en sont dépourvus comme les poireaux donnent seulement 0,1 mg et les pommes aucune trace, mais les bananes qui en sont riches ne laissent produire aussi que 0,1 mg.

#### D. — Recherche des composants inducteurs de la toxigenèse.

Si, sur les produits naturels, la production de toxine de la part des souches toxigènes paraît spontanément bonne, voire importante, il n'en est plus de même au laboratoire sur les milieux synthétiques. Aussi, certains auteurs, comme VAN DER ZIJDEN et collaborateurs [29] ou de IONGH et collaborateurs [18], (DIENER et collaborateurs [13] préfèrent-ils travailler sur arachides stérilisées ou sur un mélange d'arachide et de blé (NEWBERNE et collaborateurs [24]), sur grains ou farine de blé stérilisés (ALCROFFT et collaborateurs [1] AMBRECHT et FITZHUGH [2], BIXLER et LOPEZ [6], ASAO et collaborateurs [4], CHANG et collaborateurs [10]), enfin, sur farines de maïs (VAN DER MERWE et collaborateurs [29]). Ont encore été essayés (ARMBRECHT et HODGES [3]), les grains humi-difiés et stérilisés d'avoine, seigle, riz, soja.

Par ailleurs, de nombreuses tentatives ont été faites pour obtenir des formules de milieux efficaces, certains de ceux utilisés habituel-lement en mycologie étant peu intéressants. Par exemple, sur milieu d'EMERSON ou de CODNER, il n'apparaît que 2 à 3 mg/l. Nous avons, de notre côté, mis au point le mélange suivant :

dextrine .....	10	g
peptone .....	10	g
amidon .....	1	g
lactose .....	1	g
phosphate de potasse (mono-) .....	1	g
sulfate ferreux .....	0,01	g

qui a l'avantage de donner des cultures de même aspect que celles qui poussent sur les arachides broyées, humidifiées et où la production d'aflatoxine est excellente (20 mg/kg). Le milieu glucose peptone est de la même qualité (1), ce qui souligne bien l'effet de certaines substances azotées, comme nous le verrons, d'ailleurs, plus loin.

Sur un autre milieu synthétique composé de :

proline .....	5	g
esculine .....	10	g
phosphate bipotassique.....	1	g
sulfate de magnésium .....	0,5	g
sulfate ferreux .....	0,01	g

sur lequel *A. flavus* pousse et sporule rapidement, nous avons dosé jusqu'à 90 mg de toxine par litre.

Comme il est très difficile avec des substances aussi complexes que les aliments de dégager un composant responsable de l'induction de sécrétion de la toxine, nous nous sommes adressés à une autre méthode, celle des adjonctions au milieu de base de culture des champignons de *СЗАПЕК-ДОХ*, où aucune de nos souches ne produit de flavatoxine, lorsqu'il est pur.

#### a) glucides.

Bon nombre en sont totalement inefficaces : aucune de nos souches pathogènes en leur présence ne peut réaliser la toxinogénèse. C'est le cas de l'arabinose, du xylose, du glucose, du galactose, du manose, du fructose, du maltose, du lactose, du saccharose, des dextrines, et parmi les polyols, du mannitol et du sorbitol.

Sont, au contraire, inducteurs : l'amidon soluble, l'amidon de riz, l'amidon de pomme de terre (0,1 mg/kg en 10 jours), le cellobiose (1 à 1,5 mg), le tréhalose (1 mg en 7 à 10 jours), le glycérol (0,5 à 1 mg en 16 jours) et surtout, parmi les hétérosides, l'esculoside (18 à 20 mg). Comme on le voit, là encore, la structure stéréochimique joue un rôle important (la différence de comportement entre le maltose et le tréhalose, par exemple, est très significative) ; il n'y

(1) Nous obtenons sur celui-ci de 20 à 22 mg/kg de mycotoxine.

a pas, par ailleurs, de liaison forcée entre l'excitation de la culture et celle de la toxinogénèse.

b) *lipides*.

Nous nous sommes servis d'huile d'arachide, d'amandes douces, de ricin, d'olive, de lin, de pied de bœuf. Aucune n'a d'effet. Seule une huile de lin vieillie, faisait produire 0,1 à 0,2 mg/kg, alors qu'un exemplaire frais ne donnait rien.

Certains acides gras (acides arachidique, palmitique, laurique, myristique, béhénique, lignocérique) favorisent le développement des appareils végétatifs et sporifères. D'autres, au contraire, ralentissent et même inhibent la croissance du champignon (a. caproïque, propionique, caprylique). Aucun ne provoque la synthèse du poison.

c) *protides*.

Certains, là aussi, sont sans action, comme le sérum sanguin, l'extrait globulaire, l'hémoglobine, le sang complet de cheval, les globules rouges de mouton. Le liquide d'ascite humaine (à 10 p. 100) fait apparaître des traces (un peu moins de 0,1 mg/l). En revanche, la caséine (16 mg/l), le lait total (8 à 200 mg/l, selon les types d'échantillon), la peptone (8 à 9 mg/kg), l'extrait de levure (6 mg), sont actifs.

Il nous a donc paru utile d'envisager l'influence des amino-acides : il y en a d'absolument inefficaces (glycocolle, alanine, cystine, tyrosine, leucine, arginine, lysine, thréonine, acide aspartique). D'autres, en revanche, sont efficaces, dès le taux de 1 p. 100 : et, par ordre décroissant, il nous faut citer la proline (11mg en 8 à 10 jours de culture), la phénylalanine (2 à 3 mg, dans le même laps de temps), l'acide glutamique (1,5 mg), le tryptophane (1,2 mg), l'asparagine (1 mg), la valine (0,5 mg), l'histidine et la méthionine (0,2 à 0,3 mg).

Avec les mélanges d'acides aminés, les taux de toxine sont plus importants : 1 mg pour l'ensemble méthionine-asparagine à 0,5 p. 100 ; 8 mg pour les méthionine-valine ajoutées dans les mêmes proportions.

### E. — Résistance de la flavatoxine.

Il est difficile dans l'état actuel de nos connaissances de se débarrasser du champignon, de ses spores et de son thalle ; il est plus malaisé encore, de détruire, *in situ*, la toxine synthétisée.

Il est connu que les flavatoxines pures sont hautement thermostables. AUSTWICK et AYERST [5] ont montré qu'un chauffage à 150° C pendant quelques heures n'élimine pas la fraction toxique d'un aliment pollué. Cependant, nous avons constaté qu'un chauff-

fage à 180° C pendant 1 heure ou un stockage de 5 à 8 jours à 70° C du résidu de l'extrait chloroformique brut d'un produit toxique ont provoqué une nette diminution ou même, dans certains cas, un effacement total du spot fluorescent caractéristique. Tout se passe comme si ce traitement favorisait un phénomène d'oxydation de la toxine par d'autres substances chloroformo-solubles, en particulier des pigments. En effet, la disparition de la tâche fluorescente sur le chromatogramme se double parfois de l'apparition d'un autre tracé orangé brun.

Enfin, certains corps comme l'eau de Javel [14 et 15] ont la propriété de se combiner avec le poison pour former un composé non fluorescent dont les essais biologiques sur l'embryon de poulet attestent qu'il est dénué de toute nocivité. Par un test chimique simple, nous avons pu confirmer l'efficacité de l'hypochlorite de sodium à 5 p. 100, ainsi que de la soude N et N/10. L'eau de Javel au 1/50, la soude N/100, l'acide chlorhydrique N/10, le bichromate de potassium à 10 p. 100 dans l'eau, le chlorure et l'hyposulfite de sodium sont sans effet.

Ces méthodes, si elles sont facilement mises en œuvre au laboratoire, sont néanmoins d'un intérêt douteux, car elles ne sont pas applicables à l'échelle industrielle en vue de la préservation et de la conservation des aliments.

#### IV. — CONCLUSIONS

L'existence en France de souches toxigènes d'*Aspergillus flavus*, même si elles ne sont pas les plus fréquentes, la constatation relativement courante de flavatoxines dans certains aliments incitent à entreprendre de nouvelles recherches. Il devient, notamment nécessaire, en *pathologie animale* :

a) d'étudier l'effet des doses faibles, mais répétées, en particulier au niveau du foie et des reins. Peut-être, est-ce là une des raisons (en dehors des maladies parasitaires bien connues) qui explique l'importance des pertes économiques énormes qui frappent cet organe, du fait des saisies beaucoup trop nombreuses, bien que justifiées. En dehors même des lésions directes produites par la toxine, il est possible qu'elle facilite des actions d'autres agents d'agression (microbes, produits chimiques, par exemple) qui sans elle, auraient été inefficaces.

Le cas des petits animaux de laboratoire, avec lesquels on tente d'obtenir de véritables réactifs stables et constants est un cas particulier du plus haut intérêt, et il est anormal de prendre un luxe

inouï de précautions pour réaliser des élevages sans germes ou, au moins, exempts d'organismes pathogènes spécifiques, si les aliments qu'on leur fournit, comme nous l'avons deux fois constaté, renferment une mycotoxine, même à l'état de trace.

b) il faudra donc définir, pour nos animaux, une dose maximale admissible.

c) les aliments importés ou les matériaux qui servent à les réaliser devront être contrôlés à l'importation et lors des achats. Le mélange avec des produits analogues non toxiques permettra de rester au-dessous de la dose définie ci-dessus.

Tout ceci souligne l'importance de l'examen microbiologique des aliments du bétail, beaucoup trop négligé généralement et qu'avec M<sup>me</sup> VILLETTE, nous avons poursuivi autrefois, sur divers échantillons à mon laboratoire [30] [31].

d) une propagande doit être entreprise auprès des agriculteurs pour leur faire rejeter les produits moisissés, car ils n'ont ni le loisir ni la compétence pour déterminer les espèces et préciser de surcroît les variétés toxigènes. Ils ne doivent pas, non plus, réserver aux animaux des aliments de l'homme intempestivement moisissés.

Les docteurs vétérinaires étant chargés des contrôles des denrées d'origine animale destinées à l'homme, d'autres conséquences apparaissent, en raison du passage de la flavotoxine dans le lait (ALCROFFT et CARNAGHAN [1], SARGEANT et collaborateurs [26], CALVET et collaborateur [9]), où elle est excrétée encore 9 jours après cessation de l'administration buccale (DELAGE et BERNAGE [12]), des questions nouvelles d'hygiène du consommateur se posent. Il en est de même, également, des viandes provenant d'animaux ayant ingéré la mycotoxine.

Enfin, cette question de la flavatoxine pour si passionnante qu'elle soit, n'est qu'un cas particulier de l'immense domaine des mycotoxines que nous voyons s'ouvrir devant nous, et de celui plus important encore de la microbiologie alimentaire, dont le développement doit être, d'ici quelques années de la plus haute importance pour l'avenir de l'humanité, ainsi que nous l'avons récemment souligné [19].

(Laboratoire de Microbiologie  
de la Faculté des Sciences de Caen)

#### BIBLIOGRAPHIE

1. ALCROFFT (R.), CARNAGHAN (R.), SARGEANT (K.) et O'KELLY (J.). — *Vet. Rec.*, 1961, **73**, 428.
2. ARMBRECHT (B.) et FITZHUGH (O.). — *C. R. 24<sup>e</sup> Ann. Meet. Ind. Hyg. Alim.*, 1963, 9.

3. ARMBRECHT (B.), HODGES (F.), SMITH (H.) et NELSON (A.). — *J. A. O. A. C.*, 1963, **46**, 805.
4. ASAO (T.), BUCHI (G.), ABD EL KADER (M.), CHANG (S.), WICK (E.) et WOGAN (G.). — *J. Am. Chem. Soc.*, 1963, **85**, 1706.
5. AUSTWICK (P.) et AYERST (G.). — *Chem. Ind.*, 1963, **2**, 55.
6. BIXLER (E.) et LOPEZ (L.). — *Tec. Pec. Mexico*, 1963, **2**, 27.
7. BOUTIBONNES (P.). — Contribution à l'étude de la toxicité d'*Aspergillus clavatus* pour les animaux. Diplôme d'Etudes Supérieures, Caen, 1963.
8. BOUTIBONNES (P.) et JACQUET (J.). — *Rev. Immuno.*, 1967, **31**, 293.
9. CALVET (M.), BOUDERGUES (R.), DISCACIATI (E.) et CLICHE (M.). — *Rev. Inst. Méd. Vét. Trop.*, 1966, **19**, 545.
10. CHANG (S.), ABD EL KADER (M.), WICH (E.) et WOGAN (G.). — *Science*, 1963, **142**, 1191.
11. COOMBS (N.). — *Nature*, 1963, **209**, 407.
12. DELAGE (J.) et BERNAGE (L.). — *Ind. Alim. Anim.*, 1966, 37.
13. DIENER (U.), DANIS (N.), SALMON (W.) et PRICKETT (C.). — *Science*, 1963, **142**, 1491.
14. FISCHBACH (H.) et CAMPBELL (A. D.). — *J. A. O. A. C.* 1964, **47**, 1003.
15. — *Ibid.*, 1965, **48**, 28.
16. FORGACS (J.). — *Maryland nutrition conference for foods Manufactures*, 1962.
17. HESSELTINE (C.), SHOTWELL (O.), ELLES (J.) et SHIBBLEFIELD (R.). — *Bact. Rev.*, 1966, **30**, 795.
18. de LONG (H.), BERTHUIS (R.), VLES (R.), DARRETT (C.) et ORD (W.). — *Biochem. Biophys. Acta.*, 1962, **65**, 548.
19. JACQUET (J.). — *C. R. Acad. Agric.*, 1967, **53**, 503.
20. JACQUET (J.) et BOUTIBONNES (P.). — *Bull. Acad. Vét.*, 1967, **40**, 169.
21. — *C. R. Acad. Agric.*, 1963, **49**, 368
22. JACQUET (J.), BOUTIBONNES (P.) et CICILE (J. P.). — *Bull. Acad. Vét.*, 1963, **36**, 199.
23. MOREAU (C.) et MOREAU (M.). — *C. R. Soc. Mycol.*, 1959, **75**, 72.
24. NEWBERNE (P.), WOGAN (G.), CARLTON (W.) et ABD EL KADER (M.). — *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1964, **6**, 542.
25. RICHIR (C.), MARTINEAUD (M.), TOURY (J.) et DUPIN (H.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1964, **158**, 1375.
26. SARGEANT (K.), SHERIDAN (A.), O'KELLY (J.), CARNAGHAN (R.). — *Nature*, 1961, **192**, 1096.
27. SCREENIVASAMURTHY (V.), JAYARAMAN (A.), et PARPIA (H.). — Mycotoxines in Foodstuffs 1<sup>er</sup> Symposium 1964, *M. I. T. Press* éd., 251.
28. VAN DER MERWE (K.), FOURIE (J.) et SCOTT de (B.). — *Chem. Ind.*, 1963, 1660.
29. VAN DER ZIJDEN (A.), KOELENSMID (W.), BOLDING (J.), BARRETT (C.), ORD (W.) et PHILP (J.). — *Nature*, 1962, **195**, 160.
30. VILLETTE (O.) — *C. R. Congrès Intern. Nutrition, Paris*, 1957.
31. — *C. R. 74<sup>e</sup> Congrès Association française pour l'Avancement des Sciences*, Caen, 1955, 1 vol. 448.