

**ORIGINAL ARTICLE**

# Champignons associés et teneurs en Ochratoxine A dans les fèves de cacao (*Theobroma cacao*) produites dans les bassins de production du Moungo, Cameroun

Blondelle Arlette Ghomfo<sup>a\*</sup> / Aoudou Yaouba<sup>a\*</sup> / Dieudonné Oyono Bitom<sup>b</sup>

**Affiliation des auteurs**

<sup>a</sup> Université de Dschang, Faculté d'Agronomie et des Sciences Agricoles, Département, d'Agriculture, Unité de Recherche de Phytopathologie et Zoologie Agricole, BP : 222 Dschang, Cameroun

<sup>b</sup> Université de Dschang, Faculté d'Agronomie et des Sciences Agricoles, Département de Sciences du Sol, Unité de Recherche d'Analyse de Sols et de Chimie de l'Environnement, BP : 222 Dschang, Cameroun

**Corresponding authors**

Blondelle Arlette Ghomfo  
Aoudou Yaouba

**Email:**

[ghomfo@gmail.com](mailto:ghomfo@gmail.com)

[yaoubaoudou@yahoo.fr](mailto:yaoubaoudou@yahoo.fr)

**Funding source**

None.

**Résumé**

Ce travail avait pour objectif la caractérisation des champignons et la détermination des teneurs en Ochratoxine A (OTA) associées aux fèves de cacao produites dans le Département du Moungo, l'un des principaux bassins de production du cacao au Cameroun. A cet effet, 325 échantillons de 500 g prélevés chez 180 producteurs après les étapes d'écabossage, de fermentation et de séchage ont été utilisés pour l'isolement des champignons. De ces échantillons, 91 ont été utilisés pour déterminer leurs teneurs en OTA par la méthode ELISA compétitif. L'identification des moisissures s'est basée sur les caractères cultureux, morphologiques, microscopiques et moléculaires. Les résultats ont montré, quatorze (14) champignons appartenant à huit (08) genres fongiques avec un taux de contamination des fèves faible après l'écabossage ( $16,87 \pm 6,74\%$ ), moyen ( $44,91 \pm 5,57\%$ ) après la fermentation et élevé après le séchage ( $84,44 \pm 3,64\%$ ). Les taux de contamination augmentent au fur et à mesure que les fèves évoluent dans le processus de transformation post-récolte. Les teneurs en OTA obtenues ont varié de  $0,20 \mu\text{gKg}^{-1}$  à  $0,51 \mu\text{gKg}^{-1}$ . En fonction des différents bassins de production, les teneurs moyennes en OTA étaient de  $0,45 \pm 0,067 \mu\text{gKg}^{-1}$  (Manjo),  $0,48 \pm 0,016 \mu\text{gKg}^{-1}$  (Loum),  $0,46 \pm 0,063 \mu\text{gKg}^{-1}$  (Penja),  $0,44 \pm 0,025 \mu\text{gKg}^{-1}$  (Mbanga) et  $0,44 \pm 0,028 \mu\text{gKg}^{-1}$  (Mumbo). Au seuil de probabilité 5%, les valeurs en OTA obtenues sont significativement inférieures à  $3,0 \mu\text{gKg}^{-1}$  qui est la limite maximale (LMR) en OTA recommandée en Union européenne (UE) dans du cacao en poudre. Dans le département du Moungo, bien qu'un taux de contamination élevé des fèves directement collectées après séchage et sans stockage par les genres *Aspergillus* et *Penicillium* ait été observé, les fèves sont conformes et respectent les normes de qualité en ce qui concerne les teneurs en OTA.

**Mots clés :** Cacao, Fèves, champignons, Ochratoxine A, Département du Moungo

**Abstract**

The aim of this study was to characterize the fungi and determine the Ochratoxin A (OTA) levels associated with cocoa beans produced in the Moungo Department, one of the main cocoa production areas in Cameroon. About 325 samples of 500 g each taken from 180 producers after the shelling, fermentation and drying were used to isolate the fungi. Of these samples, 91 were used to determine their OTA content using the competitive ELISA method. The identification of molds was based on cultural, morphological, microscopic and molecular characteristics. Results showed that fourteen (14) fungi belonging to eight (08) fungal genera were identified with a low rate of contamination of the beans after shelling ( $16,87 \pm 6,74\%$ ), a medium rate ( $44,91 \pm 5,57\%$ ) after fermentation and a high rate after drying ( $84,44 \pm 3,64\%$ ). The contamination levels increased as the beans progress through the postharvest transformation processes. The OTA levels obtained varied from  $0.20 \mu\text{gKg}^{-1}$  to  $0.51 \mu\text{gKg}^{-1}$ . According to the different production basins, the average OTA levels were  $0.45 \pm 0.067 \mu\text{gKg}^{-1}$  (Manjo),  $0.48 \pm 0.016 \mu\text{gKg}^{-1}$  (Loum),  $0.46 \pm 0.063 \mu\text{gKg}^{-1}$  (Penja),  $0.44 \pm 0.025 \mu\text{gKg}^{-1}$  (Mbanga) and  $0.44 \pm 0.028 \mu\text{gKg}^{-1}$  (Mumbo). At 5% probability threshold, the OTA values obtained were significantly lower than  $3.0 \mu\text{gKg}^{-1}$ , which is the recommended maximum limit (RML) for OTA in cocoa powder recommended in the European Union (EU). In the Moungo. In the Moungo Department, although a high rate of contamination by the genera *Aspergillus* and *Penicillium* was observed in beans collected directly after drying and without storage, the beans complied with quality standards for OTA.

**Keywords:** cocoa, beans, fungi, Ochratoxin A, Moungo Department

## 1. Introduction

Le cacao est une plante originaire d'Amérique qui produit des fèves utilisées pour la fabrication du chocolat. Le cacao a de nombreux bienfaits pour la santé, comme renforcer les muscles et les os, prévenir les maladies, stimuler le cerveau et l'humeur et lutter contre le vieillissement (Mr-ginseng, 2022). De même la cacao-culture est importante pour l'environnement, car elle favorise la biodiversité et la conservation des forêts (Mr-ginseng, 2022). En plus, l'importance économique du cacao pour les pays producteurs comme la Côte d'Ivoire, le Ghana ou le Cameroun (Damien, 2022) n'est plus à déterminer. En effet selon les données de l'Institut National de la Statistique (INS), au premier semestre 2021, les ventes de fèves brutes de cacao au Cameroun ont pourvu 13 % des recettes d'exportation, classant ce produit de rente au deuxième rang, derrière les huiles brutes de pétrole (39 %) (Mbodiam, 2023) avec 292 471 tonnes de fèves produites (MINCOMMERCE, 2022).

Depuis plusieurs années, on observe une augmentation de la production du cacao au Cameroun. Cette augmentation de la production ne va toutefois pas de pair avec une amélioration de la qualité des fèves commercialisées (Lescuyer *et al.*, 2020) car il existe plusieurs causes signalées de dégradation de la qualité des fèves et poudre de cacao que sont les champignons et les mycotoxines. Certains champignons provoquent la formation de mycotoxines y compris l'ochratoxine A (OTA) (CAOBISCO/ECA/FCC, 2015).

L'OTA est un métabolite secondaire produit par des moisissures appartenant à certains genres fongiques parmi lesquels *Aspergillus* et *Penicillium*. C'est l'une des mycotoxines la plus dangereuse de la famille des ochratoxines (OT)

qui contaminent divers produits agricoles parmi lesquels les fèves de cacao pendant les traitements post récolte (Kedjebo *et al.*, 2022). L'OTA est classifiée par l'Agence Internationale de la Recherche sur le Cancer comme potentiellement cancérigène chez l'humain, surtout pour les reins (EFSA, 2020). De nouvelles données indiquent que l'OTA peut être génotoxique en endommageant directement l'ADN (EFSA, 2020). Ainsi, le Règlement (UE) 2022,1370 de la commission du 5 août 2022 a fixé pour la première fois la limite maximale de résidus (LMR) en OTA dans la poudre de cacao à  $3,0\mu\text{gKg}^{-1}$  de poids corporel.

Vu le rang occupé par le Cameroun à l'échiquier mondial des producteurs de cacao (cinquième rang), la qualité sanitaire des fèves doit être améliorée pour permettre au pays de conquérir la première place et au pire des cas maintenir son rang actuel. Pour ce faire, une connaissance détaillée des champignons ainsi que des mycotoxines associées aux fèves de cacao localement produites est primordiale et cette connaissance précise permettrait de prendre en amont des mesures visant à préserver les fèves de cacao de toute contamination. Ainsi, l'objectif de ce travail était de caractériser les champignons et déterminer les teneurs en OTA associées aux fèves de cacao produites dans le département du Moungo, l'un des principaux bassins de production du cacao au Cameroun.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Période et zone d'étude

Les échantillons ont été collectés dans la région du Littoral au Cameroun plus précisément dans cinq (05) arrondissements du Département du Moungo ( $4^{\circ}30'0''$  N et  $9^{\circ}49'60''$  E). Entre 2016 et 2018, la production du cacao dans le Moungo représentait 52,83% de la production du Littoral

(INS, 2019). De par sa position géographique, le Moungo est traversé d'un bout à l'autre par la route nationale numéro 5 (N°5) et s'ouvre directement dans sa partie Sud à Douala, ce qui est un grand atout pour l'écoulement rapide des produits agricoles tels que le cacao, le poivre de Penja, le café... etc. Les fèves ont été mouluées au Laboratoire de Phytopathologie et Zoologie Agricole (LAPHYZA) tout comme l'isolement, la purification, l'identification macroscopique et microscopique des champignons présents sur les fèves. L'extraction et le dosage d'OTA ont été effectués au Laboratoire de Physiologie et Santé Animale (LASAN). Ces laboratoires appartiennent à la Faculté d'Agronomie et des Sciences Agricole (FASA) de l'Université de Dschang (UDs) au Cameroun. L'extraction de l'ADN, la purification, la PCR (*Polymerase Chain Reaction*) ainsi que l'identification moléculaire des champignons susceptibles de produire l'OTA ont été confiées au laboratoire Macrogen situé au Pays-Bas.

## 2.2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé était constitué : de fèves fraîches et séchées de cacao (Photo 1). Au total, 325 échantillons de 500 g ont été prélevés chez 180 producteurs choisis au hasard après les étapes d'écabossage, de la fermentation et du séchage pour l'isolement des champignons. De ces échantillons, 91 échantillons de fèves séchées ont été considérés afin de déterminer la teneur en OTA.

## 2.3. Isolement et identification des champignons associés aux fèves de cacao

### 2.3.1- Isolement des champignons

L'isolement des champignons a été réalisé selon la méthode décrite par Pit & Hoking (1997) et telle qu'utilisée par Nganou (2008) sur le café, avec une légère modification.



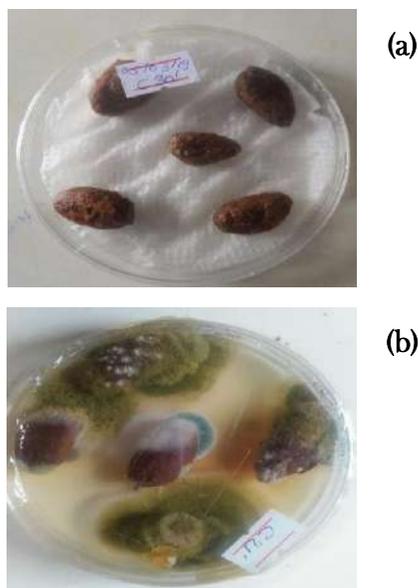
(a)



(b)

**Photo 1 :** a) fèves de cacao séchées, b) échantillon emballé (Clichés de l'auteur, 2021)

En bref, la surface des fèves fraîches ou sèches de cacao a été préalablement désinfectée superficiellement pendant 2 minutes avec une solution d'hypochlorite de sodium 2% et rincée à trois reprises avec de l'eau distillée à des intervalles de temps 5, 10 et 15 minutes respectivement. Cinq (05) fèves de cacao ainsi nettoyées ont été déposées sur papier buvard et transférées deux (02) jours après dans des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture PDA supplémenté au chloramphénicol ( $60\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) avec trois (03) répétitions pour chaque producteur. Les boîtes de Pétri ont été incubées à température ambiante du laboratoire ( $22\pm 2^\circ\text{C}$ ) et les colonies formées ont été transférées dans de nouvelles boîtes contenant le même milieu (PDA) jusqu'à l'obtention des colonies pures. Les observations visuelles ont été effectuées toutes les 24h et pendant 5 à 7 jours. La photo 2 ci-dessous, montre quelques phases de l'isolement des champignons.



**Photo 2 :** a) fèves sur papier buvard, b) fèves sur milieu PDA après 5 jours (clichés de l'auteur)

Le taux de contamination et le taux d'apparition des colonies ont été calculés respectivement selon les formules suivantes.

#### Taux de contamination des fèves

$$\text{Taux de contamination des fèves} = \frac{\text{Nombre de fèves contaminées}}{\text{Nombre total de fèves}} \times 100$$

#### Taux de contamination des fèves par des colonies spécifiques

$$\text{Taux de contamination spécifique} = \frac{\text{Nombre d'une colonie spécifique}}{\text{Nombre total des colonies}} \times 100$$

### 2.3.2. Identification des champignons

L'identification s'est basée sur les caractères cultureux, morphologiques, microscopiques et moléculaires.

#### 2.3.2.1. Caractères cultureux sur les milieux de culture

L'examen des cultures a été fait à l'œil nu. Les caractères cultureux étudiés étaient la couleur des colonies et leur variation dans le temps, couleur et changement de couleur du milieu, la texture de la surface et l'odeur (Guiraud, 1998 ; Samson *et al.*, 2004).

#### 2.3.2.2. Caractères microscopiques

L'examen microscopique a été fait grâce à des préparations à l'état frais. L'observation a été réalisée au grossissement x 100 et x 40 d'un microscope optique de marque SCHLICK. Les moisissures isolées ont été identifiées selon des critères morphologiques répertoriés ainsi que la structure des spores ou conidies (Guiraud, 1998 ; Samson *et al.*, 2004).

#### 2.3.2.3. Identification moléculaire

Après l'examen macroscopique et microscopique, les cultures pures des champignons appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* ont été envoyées au laboratoire MacroGen situé au Pays-Bas pour l'extraction de l'ADN et le test PCR. Ainsi donc, une même amorce (tableau 1) a été utilisée par le laboratoire MacroGen pour le test PCR et le séquençage des différents champignons.

### 2.4. Evaluation de la teneur en OTA

La teneur en OTA a été déterminée suivant la méthode ELISA par compétition indirecte. Le protocole était celui contenu dans le kit *ELISA quantitatif Ochratoxin A Rapid test Kit, Lot N° HEM1096* destiné au dosage des OTA. Le protocole a été légèrement modifié comme suit :

#### 2.4.1. Extraction des mycotoxines

91 échantillons séchés ont été moulus à l'aide d'un mixeur (ZAIBA). Pour chaque échantillon, 1 g de poudre obtenue a été ajouté à 5 ml de

méthanol 60% contenu dans des flacons. Les flacons ont été recouverts par du papier aluminium afin de protéger leurs contenus de la lumière. Le mélange a été ensuite homogénéisé pendant 5 min sur un vortex puis centrifugé à 4000 tours pendant 10 min. 100 µl du surnageant obtenu ont été recueillis puis ré-centrifugés à 4000 tours pendant 10 min et conservés au congélateur (-4°C) pour la détection ultérieure de la mycotoxine.

**Tableau 1** : information sur les amorces

Sequencing Primer Name Primer Sequences	PCR Primer Name Primer Sequences
ITS5 5' (TCC GTA GGT GAA CCT GCG G) 3'	ITS5 5' (TCC GTA GGT GAA CCT GCG G) 3'
ITS4 5' (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) 3'	ITS4 5' (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) 3'

### 2.4.2. Dosage quantitatif de l'OTA par la méthode ELISA

Après extraction et conservation de l'OTA, les tubes ont été laissés à température ambiante pour être dégivrés. 100 µl de chaque surnageant ont été introduits dans des tubes de dilution contenant au préalable 900 µl d'eau distillée. Le contenu des micro-puits étant déjà sensibilisé aux antigènes anti-OTA, 50 µl de l'échantillon dilué ont été transférés dans des puits et puis 50 µl d'anticorps anti-Ochratoxine A ont été ajouté. La plaque a ensuite été incubée pendant 15 min à température ambiante puis lavée quatre (04) fois. Après élimination de l'eau résiduelle issue des lavages (04 lavages à l'eau coulante), 100 µl de l'enzyme conjugué à l'Ochratoxine A, ont été introduits dans chaque puits. La plaque a été de nouveau incubée pendant 15min et puis elle a été lavée 04 fois de suite à l'aide de la solution Tampon. Les substrats A et B ont été ajoutés dans les puits et il s'est développé une coloration jaune dont l'intensité est inversement proportionnelle à la concentration en OTA présente dans les échantillons. La réaction anticorps antigène ayant eu lieu, 50 µl d'acide sulfurique ont été ajoutés pour stopper toute réaction. L'absorbance à 450 nm de chaque micro-puit a été déterminée grâce au lecteur de plaque ELISA (Ledetect 96, Labexim products). La concentration en OTA dans chaque échantillon a été déterminée à l'aide de la droite d'étalonnage générée par les concentrations en OTA des standards (0, 0,05, 0,15, 0,45 et 1,35 µg/kg). Les limites inférieures et supérieures de détection du kit étant de 0,05 µg/kg et 1,25 µg/kg respectivement.

### 2.5. Analyses statistiques

Le test de Kruskal-Wallis a été utilisé pour comparer les taux de contamination et d'infection

lors des différentes opérations post récolte et dans les différents bassins de production.

L'analyse de la variance (ANOVA) a été utilisée afin de déterminer si les pratiques dans les différentes localités ont un impact sur les teneurs en OTA.

Le test de Student à un échantillon a été utilisé pour comparer les teneurs moyennes en OTA avec les LMR de l'UE.

Le logiciel SPSS version 13.0 a été utilisé pour le test de Kruskal-Wallis et le test ANOVA alors que, le test de student a été effectué avec le logiciel R-studio version 4.2.3.

Les différents tests statistiques ont été effectués au seuil de probabilité 5%.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Résultats

##### 3.1.1. Taux de contamination des fèves et Champignons identifiés

###### 3.1.1.1- Taux de contamination des fèves

Le tableau 2 ci-dessous présente les taux de contaminations des fèves de cacao au cours des opérations de transformation post-récolte.

A l'écabossage, on observe un faible taux de contamination des fèves par des champignons. En effet, 69,56% des échantillons analysés ont un taux de contamination inférieur ou égal à 25% avec une moyenne de 16,87±6,74 %. Après la fermentation, 48,42% des échantillons ont un taux de contamination compris entre 0 et 25% tandis que 38,95% des échantillons présentent un taux de contamination compris entre 75 et 100%. Après le séchage, on constate que 89,86% des échantillons ont un taux de contamination compris entre 75 et 100%. On note en général des forts taux de contamination des échantillons (entre 75 et 100%) lors des opérations de

fermentation et séchage. Au seuil de probabilité 5%, le taux de contamination est significativement différent entre les différentes étapes de transformation et il augmente au fur et à mesure que l'on progresse dans le processus de transformation post-récolte des fèves dans le Moungo (avec p=0,00).

Tableau 2 : taux de contamination des fèves en fonction des opérations post-récolte

Opération	Taux de contamination (%) des fèves de cacao					Moyenne (±Erreur)	Total
	[00-25]	[ 25-50]	[ 50-75]	[ 75-100]			
<b>Ecabossage</b>	112 (69,56%)	21 (13,04%)	9 (5,59%)	19 (11,80%)		16,87 ± 6,74 a	161
<b>Fermentation</b>	46 (48,42%)	6 (6,32%)	6 (6,32%)	37 (38,95%)		44,91 ± 5,57 b	95
<b>Séchage</b>	5 (7,25%)	0%	2 (2,9%)	62 (89,86%)		84,44 ± 3,64 c	69

### 3.1.1.2. Champignons associés aux fèves de cacao

Un nombre total de quatorze (14) champignons appartenant à huit (08) genres fongiques a été mis en évidence dans les trois étapes de transformation post-récolte que sont l'écabossage (E), la fermentation (F) et séchage (S) (tableau 3). Parmi ces champignons, seul ceux ayant des caractères morpho-culturels et microscopiques semblables aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* ont fait l'objet d'une identification moléculaire.

Après l'écabossage, huit (08) champignons appartenant à cinq (05) genres fongiques ont été isolés à savoir : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus toxicarius*, *Aspergillus carbonarius*, *Penicillium expansum*, *Penicillium citrinum*, *Phytophthora sp*, *Rhizopus sp* et *Cercospora sp*. À cette étape, on note une omniprésence de *A.flavus* dans tous les bassins exception faite du bassin de Penja, avec une prédominance à Mbanga ( $3,45 \pm 00\%$ ) et à Manjo ( $2,76 \pm 1,54\%$ ). A l'étape d'écabossage, la fréquence relative d'apparition des champignons varie significativement ( $p < 0,05$ ) dans les arrondissements pour les champignons *A.flavus*, *Penicillium expansum*, *Phytophthora sp* et *Rhizopus sp*.

Après fermentation, dix (11) champignons appartenant à cinq (05) genres fongiques ont été identifiés à savoir : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus toxicarius*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus niger*, *Talaromyces scorteus*, *Penicillium expansum*, *A.giganteus*, *Penicillium citrinum*, *Phytophthora sp*, *Rhizopus sp* et *Cercospora sp*. À cette étape, on note une omniprésence de *Rhizopus sp* dans tous les bassins, avec une prédominance à Manjo ( $0,14 \pm 0,24$ ). A l'étape de fermentation, la fréquence relative d'apparition des champignons varie significativement ( $p < 0,05$ ) dans les arrondissements pour les champignons suivants : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus*

*toxicarius*, *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*, *A.giganteus* et *Cercospora sp*.

Après séchage, quatorze (13) champignons appartenant à huit (08) genres fongiques ont été identifiés à savoir : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus toxicarius*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus niger*, *Talaromyces scorteus*, *Penicillium expansum*, *Penicillium fasaus*, *Penicillium citrinum*, *inconnu1*, *Phytophthora sp*, *Fusarium sp*, *Rhizopus sp*, et *Cercospora sp*. Parmi ces champignons, *Penicillium fasaus* est présent seulement à Mumbo avec une fréquence relative d'apparition de ( $0,02 \pm 0,08$ ) et sera décrit pour la première fois dans cette étude. A l'étape de séchage, la fréquence relative d'apparition des champignons varie significativement ( $p < 0,05$ ) dans les arrondissements pour les champignons suivants : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus toxicarius*, *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus niger*, *Penicillium fasaus*, *inconnu1*, *Phytophthora sp*, *Rhizopus sp*, et *Cercospora sp*.

### Caractères morphologiques et moléculaires des champignons inventoriés

Les souches ont été enregistrées au laboratoire de Macrogerm avec des codes. Le tableau 4 ci-dessous présente les informations morphologiques, et génétiques des espèces fongiques identifiées.

Les champignons ayant fait l'objet d'une identification moléculaire, étaient tous de la famille des *Aspergillaceae* exception faite de *Talaromyces scorteus* qui appartient à la famille des *Trichocomaceae*. A l'observation microscopique, les différents champignons identifiés avaient des conidiophores présent à l'exception de *Rhizopus sp*. L'espèce *Talaromyces scorteus* a produit une substance jaune qui se diffusait dans le milieu de culture PDA.

**Tableau 3 : champignons identifiés et fréquence relative d'apparition des espèces fongiques en fonction des bassins de production du Moungo.**

Espèce fongique	Mumbo			Loun			Mbanga			Penja			Manjo			P-value		
	E	F	S	E	F	S	E	F	S	E	F	S	E	F	S	E	F	S
<i>A.flavus</i>	0,69	0,09	0,22	0,13	0	0,06	3,45	0,27	0,21	0	0,18	0,1	2,76	0,09	0,11	0	0	0
<i>A.toxicarius</i>	0,86	0,12	0,15	0	0	0,05	0	0	0,05	0,11	0	0	0	0,04	0	0,10	0	0
<i>A.carbonarius</i>	0	0	0,08	0	0	0	0	0,08	0,03	0,11	0,03	0,02	0	0	0,01	0,87	0,02	0
<i>A.niger</i>	0	0,01	0,09	0	0	0,03	0	0,23	0,09	0	0,02	0,01	0	0,04	0,06	1	0	0,01
<i>T.scorteus</i>	0	0	0,04	0	0	0,01	0	0,06	0,02	0	0,03	0,02	0	0	0,02	1	0,07	0,45
<i>P.expansum</i>	1,53	0,21	0,15	0	0	0,08	0	0,21	0,11	0,11	0,1	0,06	0,69	0,07	0,15	0	0,01	0,05
<i>A.giganteus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0,06	0	0	0	0	0	0	0	1	0,01	1
<i>P.fusaus</i>	0	0	0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0,03
<i>P.citrinum</i>	0	0	0,01	0	0	0,01	0	0,04	0	0,11	0,02	0,02	0	0	0,01	0,89	0,20	0,70
<i>inconnu1</i>	0	0	0,04	0	0	0	0	0	0,1	0	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Phytophora sp</i>	0	0	0,01	0	0	0,06	1,72	0	0,01	0	0,03	0,02	1,72	0	0,06	0	0,14	0,01
<i>Fusarium sp</i>	0	0	0,03	0	0	0,01	0	0	0,01	0	0	0	0	0	0	1	1	0,08
<i>Rhizopus sp</i>	1,03	0,12	0,09	0	0,02	0,06	1,72	0,06	0,15	0	0,13	0,08	2,3	0,14	0,13	0	0,15	0,04
<i>Cercospora sp</i>	0	0,13	0,1	0,38	0,04	0	0	0,14	0,08	0	0,29	0,18	0	0	0,04	0,33	0	0

Ecabossage (E), Fermentation (F) et Séchage (S)

**Tableau 4 :** Informations morphologiques et génétiques des espèces identifiées

Code	Description	Pct (%)	Numéro d'accès	Caractères Morphologiques			
				Couleur endroit	Couleur envers	Texture	Topographie
S5	<i>Aspergillus flavus</i>	99	MG575474.1	verte	incolore	duveteuse	surélevé avec stries radiale
S6	<i>Aspergillus toxicarius</i>	100	MH865314.1	vert-olive	incolore	duveteuse	surélevé avec stries radiale
S7	<i>Aspergillus niger</i>	100	MN069568.1	Noir-charbon	incolore	granuleuse	cérébriforme
S12	<i>Aspergillus giganteus</i>	100	MH857126.1	bleu-vert pale	incolore	duveteuse	cérébriforme
S11	<i>Penicillium expansum</i>	99	MH879835.1	vert-bleuté	incolore	poudreuse	plane avec stries radiale
S15	<i>Penicillium citrinum</i>	99	LT558889.1	vert-gris avec bordure blanc	jaune	poudreuse	cérébriforme
S14	<i>Penicillium fusaus</i>	100	JX317421.1	vert-fougère avec un centre noir	blanc	poudreuse	surélevé avec stries radiale
S9	<i>Talaromyces scorteus</i>	99	MH857965.1	vert-olive	pourpre	glaive	cérébriforme
s8	<i>A carbonarius</i>	/	/	noir-brun	incolore	granuleuse	cérébriforme
S1	<i>inconnu</i>	/	/	grise	noire	duveteuse	cérébriforme
S2	<i>Phytophthora sp</i>	/	/	blanche avec des bouts noirs	incolore	duveteuse	surélevé
S3	<i>Fuzarium sp</i>	/	/	rosâtre	incolore	filamenteuse	surélevé
S4	<i>Rhizopus sp</i>	/	/	blanche avec des bouts noirs	incolore	filamenteuse	surélevé
S10	<i>Cercospora sp</i>	/	/	blanc puis noir	noire	filamenteuse	surélevé

Pct : taux de compatibilité des gènes

### 3.1.2. Teneur en OTA dans les fèves

Les différentes teneurs en OTA dans les fèves de cacao sont présentées dans le tableau 5 ci-dessous.

**Tableau 5 : teneur en OTA dans les fèves par bassin de production**

Bassin de production	Teneur en OTA ( $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ )					Référence	P-Value
	Min	Moyenne $\pm$ Ecart-type	Max				
Manjo	0,25	0,45 $\pm$ 0,07	0,51			2	
Loum	0,45	0,48 $\pm$ 0,02	0,51			2	
Penja	0,2	0,46 $\pm$ 0,06	0,51		3 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ (UE, 2022)	2	
Mbanga	0,36	0,44 $\pm$ 0,03	0,48			2	
Mumbo	0,36	0,44 $\pm$ 0,03	0,48			2	

Il ressort du tableau 9 ci-dessus que les teneurs en OTA varient de 0,20  $\mu\text{g Kg}^{-1}$  à 0,51  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ . Les teneurs moyennes sont de : 0,45  $\pm$  0,07  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ , 0,48  $\pm$  0,02  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ , 0,46  $\pm$  0,06  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ , 0,44  $\pm$  0,03  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ , 0,44  $\pm$  0,03  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ , dans les bassins de Manjo, Loum, Penja, Mbanga et Mumbo

respectivement. Au seuil de probabilité 5%, les teneurs en OTA obtenues dans les différents bassins sont significativement inférieures à la valeur de référence de l'UE (P=2).

### 3.2. Discussion

Dans les différents bassins de production, on a observé un taux élevé de contamination des fèves de cacao par une flore fongique diversifiée. Ce taux élevé de contamination des fèves par une flore fongique diversifiée, serait dû aux différentes manipulations que subissent les fèves dès l'écabossage jusqu'à la commercialisation. En 2008, une étude effectuée par Mounjouenpou montrait également un fort taux de contamination (100%) des fèves de cacao par une microflore fongique diversifié quelle que soit l'étape de transformation post-récolte (Mounjouenpou, 2008). D'après l'Institut National de la Statistique (INS, 2019), la manipulation des fèves est effectuée majoritairement par des personnes n'ayant reçu aucune formation (INS, 2019) et moins encore des formations sur les bonnes pratiques de transformation alors que, entre 2014 et 2018 le Département du Moungo avait bénéficié de l'appui de certains projets parmi lesquels le PAGQ2C (Projet d'Appuis à la Gestion de la Qualité du Cacao et du Café) visant à améliorer la qualité des fèves de cacao (PAGQ2C, 2017). D'après plusieurs auteurs notamment Mounjouenpou (2008) et Lahouar (2016), la contamination des produits agricoles en post-récolte est l'une des caractéristiques des champignons des genres *Aspergillus* et *Penicillium* ; ce qui explique leurs prédominances sur les fèves de cacao analysées. Ainsi donc, une étude menée par Lahouar (2016) sur le sorgho commercialisé en Tunisie a également montré une forte contamination des graines par les champignons du genre *Aspergillus*. Plusieurs autres auteurs ont relevé que, parmi les

champignons identifiés dans cette étude, plusieurs seraient susceptibles de produire une ou plusieurs mycotoxines et la même mycotoxine pourrait être produite par des champignons différents (Verga *et al.*, 2007, Gauthier, 2016, Macrogen, 2022). En effet, de ces champignons, *Aspergillus flavus* et ceux de la section Nigri identifiés sont susceptibles de produire de l'OTA et cette mycotoxine a été décrite par Kedjebo *et al* (2022) comme la plus dangereuse mycotoxine de la famille des Ochratoxines. En-dehors du risque sanitaire causé par la production des mycotoxines, une forte contamination des fèves de cacao par des champignons altérerait la qualité physique des fèves et leur donnerait un goût de moisi (qualité organoleptique). De ce fait, les fèves moisies constituent un défaut majeur dans la classification en grade du cacao marchand (ISO 1114, 1997). Afin de réduire les risques de contamination des fèves par les champignons, les producteurs et opérateurs qui manipulent les fèves de cacao devraient être formés sur les bonnes pratiques de transformations et de stockage des fèves de cacao. En plus de cela, les infrastructures de stockage et transport devraient être améliorées.

Les échantillons analysés ont montré dans leurs totalités une faible teneur en OTA dans les fèves de cacao. La faible teneur en OTA observée dans les fèves serait dû au fait que, non seulement les cabosses n'avaient pas été stockées avant écabossage, mais aussi la collecte des échantillons s'est faite chez les producteurs directement après le séchage. En effet, une évaluation de la teneur en OTA dans les fèves de cacao menée en Côte d'Ivoire par Kedjebo *et al.* (2014) avait relevé que, les pratiques post-récoltes ont un impact sur la qualité marchande du cacao (Kedjebo *et al.*, 2022).

Sachant que les producteurs de cacao dans le Mounjo ne disposent pas d'équipements et

infrastructures nécessaires pour un bon stockage des fèves, la collecte des fèves directement après le séchage pourrait être la meilleure méthode à utiliser afin de réduire la production des mycotoxines telles que l'OTA dans les fèves de cacao marchand.

#### 4. Conclusion

A l'issue de ce travail donc l'objectif était de caractériser les champignons et de déterminer les teneurs en OTA associées aux fèves de cacao produites dans le département du Mounjo, l'un des principaux bassins de production du cacao au Cameroun. Il ressort que les fèves sont fortement contaminées par des champignons après le séchage. Parmi les champignons identifiés, ceux des genres *Aspergillus* et *Penicillium*, susceptibles de produire des mycotoxines telle que l'OTA, ont été prédominants. Malgré les contaminations observées, les fèves sont conformes et respectent les normes de qualité en ce qui concerne les teneurs en OTA. Afin de réduire la contamination des fèves par des champignons ou autre microorganisme pathogène, il est plus que nécessaire de former les producteurs de cette localité sur les bonnes pratiques de récolte et de transformation post-récolte du cacao marchand.

#### Remerciements

Les auteurs remercient Dr. Arius B DONGMO NGUEDIA et M. Tomas TEBOCK du laboratoire de physiologie et santé animale pour leurs apports lors de la détermination des teneurs en OTA.

#### Conflit d'intérêt

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont aucun conflit d'intérêt par rapport à ce travail.

#### Éthique

Cette étude n'est faite ni sur des hommes, ni sur des animaux.

## Références

- CAOBISCO/ECA/FCC. (2015). Fèves de cacao: Exigences de qualité de l'industrie du chocolat et du cacao Septembre. *End, M.J. et Dand, R.* pp29-31.
- Carte du Moungo. (2023). En ligne [https://www.researchgate.net/figure/Occupation-du-sol-dans-la-zone-du-Moungo-en-2001\\_fig2\\_342116782](https://www.researchgate.net/figure/Occupation-du-sol-dans-la-zone-du-Moungo-en-2001_fig2_342116782). Consulté le 04 Janvier 2023.
- Chococlic. (2021). La provenance des fèves de cacao du Cameroun. En ligne [https://www.chococlic.com/La-provenance-des-feves-de-cacao-du-Cameroun\\_a1487.html](https://www.chococlic.com/La-provenance-des-feves-de-cacao-du-Cameroun_a1487.html). Consulté le 15 décembre 2021.
- CNCC (Conseil National des Chargeurs du Cameroun). (2021). Le Cameroun affiche une production cacaoyère en hausse de +12%. En ligne <https://www.cncc.cm/fr/article/le-cameroun-affiche-une-production-cacaoyere-en-hausse-de-12-170>. Consulté le 17/08/2023.
- Damien. (2022). Importance du Cacao. MARNDR. En ligne <https://incah-haiti.gouv.ht/index.php/cacao/importance-cacao>. Consulté le 17/08/2023.
- EFSA (European FoodSafetyAuthority). (2020). Ochratoxine A dans les aliments : évaluation des risques pour la santé publique. En ligne <https://www.efsa.europa.eu/fr/news/ochratoxin-food-public-health-risks-assessed> Consulté le 10/04/2023.
- Gauthier, A. (2016). Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé. Thèse de Doctorat en Sciences Pharmaceutiques. Université de Bordeaux, France. 131p.
- Guiraud, J.P. (1998). Microbiologie alimentaire. Technique et ingénierie. Série Agroalimentaire. *Dunod*. Paris: 652.
- INS (Institut National de la Statistique). (2019). Annuaire statistique de la région du littoral : recueil des séries d'informations statistiques sur les activités économiques, sociales, politiques et culturelles de la région jusqu'en 2018. 549p.
- Kedjebo, K., Noel, D., Fontana, A & Guéhi, T.S. (2022). Effet des traitements technologiques post-récolte sur la contamination du cacao par l'Ochratoxine A (OTA). *Researchgate*. En ligne : <https://www.researchgate.net/publication/358940431>, Consulté le 10/04/2023
- Lahouar A. (2016). Mycotoxines et champignons mycotoxinogènes dans les grains de sorgho commercialisé en Tunisie : Incidence et profils écophysiologiques. Thèse de doctorat. Institut Supérieur de Biotechnologie de Monastir, Tunisie. 225p
- Lescuyer G., Bassanaga S., Boutinot L., & Goglio P. (2019). Analyse de la chaîne de valeur du cacao au Cameroun. Rapport pour l'Union Européenne, DG-DEVCO. Value Chain Analysis for Development Project (VCA4D CTR 2016/375-804). 127p
- Manga L. (2013). Chaîne de valeur Cacao : De l'agriculteur au consommateur. Guide technique N°4. *Collection TAER*. 17p
- Mbodiam, B.R. (2023). Cacao : le Cameroun a produit et commercialisé 295 163 tonnes au cours de la campagne 2021-2022 (ONCC).
- MINCOMMERCE. (2022). Cacao place à la saison 2022-2023. *Cameroun tribune*. En ligne <https://www.cameroun-tribune.cm/article.html/50447/fr.html/cacao-place-la>. Consulté le 10/04/2023
- Mounjounpou P. (2008). *Aspergillus* noirs producteurs d'Ochratoxine A dans le cacao biodiversité et incidence des traitements post-récolte au Cameroun. Thèse de Doctorat en sciences des aliments (biotechnologie,

- microbiologie), Université de Montpellier 2, France. 163p.
- Mr-ginseng. (2022). Cacao. En ligne <https://mr-ginseng.com/cacao/>. Consulté le 17/08/2023.
- Norme Européenne. (2006). Règlement (CE) N o 1881/2006 Portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE). *Journal officiel de l'Union européenne*.
- Norme Européenne. (2022). Règlement (UE) 2022/1370 de la commission : du 5 août 2022 modifiant le règlement (CE) no 1881/2006 en ce qui concerne les teneurs maximales en Ochratoxine A dans certaines denrées alimentaires (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE). *Journal officiel de l'Union européenne*. p4.
- Pitt, J.I & Hoking, A.D. (1997). Fungi and Food Spoilage. Blackie Academic & Profesional, London- Weinheim- NewYork- Tokyo- Melbourne- Madras. 593p.
- Samson, R.A, Houbraken, J.A.M.P., Kuijpers, A.F.A., Frank, J.M & Frisvad, J.C. (2004). New ochratoxin A or sclerotium producing species in *Aspergillus* section Nigri. *Studies in Mycology*, 50. 45-61.
- Varga J., Kevei E., Rimony E., Teren J & Kazakiewicz Z. (1996). Ochratoxin production by *Aspergillus* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 4461-4464.
- Zhou, T., Lei, T., Gustav, Y., Yujie, F., Brigham, J.H., Suranjit, M, Mark, T., Kristen, J.B., Qisheng, Z., Robert, E.S., Todd, E., Lorenz, S., & Shuibing, C. (2017). High-Content Screening in hPSC-Neural Progenitors Identifies Drug Candidates that Inhibit Zika Virus Infection in Fetal-like Organoids and Adult Brain. *Cell Stem Cell*, 21(2), 274-283.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2017.06.017>.

Cite this paper as: Ghomfo, A.B., Yaouba, A. & Bitom, O.D. (2024). Champignons associés et teneurs en Ochratoxine A dans les fèves de cacao (*Theobroma cacao*) produites dans les bassins de production du Moungo, Cameroun. *Journal of Food Stability*, 7 (2), 27-39.  
[DOI: 10.36400/J.Food.Stab.7.2.2024-003](https://doi.org/10.36400/J.Food.Stab.7.2.2024-003)